

ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 1934

N° 40

THÈSE

POUR LE

Doctorat Vétérinaire

(DIPLOME D'ETAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris

PAR

Georges GUILLOT

Né le 13 Mars 1902, à Lyon (Rhône)

Vétérinaire capitaine
au Laboratoire militaire de Recherches Vétérinaires

Contribution à l'Etude du bacille de Preisz-Nocard

JURY :

Président : M. Robert DEBRÉ, professeur à la Faculté de Médecine.

Assesseurs } M. PANISSET
 } M. LESBOUYRIES { professeurs à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort.

EDITIONS

DE LA REVUE DE PATHOLOGIE COMPAREE ET D'HYGIENE GÉNÉRALE

7, RUE GUSTAVE NADAUD. PARIS (16^e)

1934



Digitized by the Internet Archive
in 2026

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 1934

N° 40

THÈSE

POUR LE

Doctorat Vétérinaire

(DIPLOME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris

PAR

Georges GUILLOT

Né le 13 Mars 1902, à Lyon (Rhône)

Vétérinaire capitaine
au Laboratoire militaire de Recherches Vétérinaires

Contribution à l'Etude
du bacille de Preisz-Nocard

JURY :

Président : M. Robert DEBRÉ, professeur à la Faculté de Médecine.

Assesseurs { M. PANISSET { professeurs à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort.
 { M. LESBOUYRIES }

EDITIONS

DE LA REVUE DE PATHOLOGIE COMPARÉE ET D'HYGIÈNE GÉNÉRALE
7, RUE GUSTAVE NADAUD, PARIS (16°)

1934



Contribution à l'étude du bacille de Preisz-Nocard

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Directeurs honoraires : MM. P.-J. CADIOT, H. VALLÉE et E. NICOLAS

Directeur : M. BRESSOU

Professeurs honoraires : MM. G. BARRIER, Inspecteur général honoraire des Ecoles
Vétérinaires

P.-J. CADIOT, DECHAMBRE, H. VALLÉE.

PROFESSEURS ET CHARGÉS DE COURS

	MM.
Anatomie descriptive des animaux domestiques	BRESSOU
Physiologie, thérapeutique générale	MAIGNON
Physique et chimie médicales, toxicologie, pharmacie	NICOLAS
Parasitologie et maladies parasitaires, clinique ; Zoologie	HENRY
Pathologie médicale des équidés et des carnassiers, clinique ; sémiologie et propédeutique, jurisprudence.	ROBIN
Pathologie chirurgicale des équidés et des carnassiers, clinique ; anatomie chirurgicale, médecine opératoire et ferrure	COQUOT
Pathologie bovine, ovine, caprine, porcine et aviaire, clinique, médecine opératoire, obstétrique.	LESBOUYRIES
Pathologie générale et microbiologie, maladies microbiennes et police sanitaire, clinique	PANISSET
Histologie et embryologie, anatomie pathologique, autopsies	PETIT
Zootéchnie et économie rurale.	LETARD
Agronomie, botanique et hygiène ; matière médicale.	SIMONNET
Industrie et contrôle des produits d'origine animale	VERGE.

CHEFS DE TRAVAUX

MM. MONVOISIN.
MOUSSU (R.)
MM. VALADE

GORET
BRION
BERTHÉLON
CARPENTIER

La Faculté de Médecine et l'École Vétérinaire déclarent que les opinions émises
dans les dissertations qui leur sont présentées, doivent être considérées comme
propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni im-
probation.

A LA MÉMOIRE DE MON FILS ANDRÉ

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

A MA FEMME

A MA FILLE

A MA FAMILLE

A MONSIEUR LE PROFESSEUR R. DEBRÉ

A MONSIEUR LE PROFESSEUR PANISSET

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LESBOUYRIES

A MONSIEUR LE PROFESSEUR URBAIN

A MONSIEUR LE VÉTÉRINAIRE COMMANDANT
CARPENTIER

A MES MAITRES

A MES CHEFS

INTRODUCTION

L'occasion qui nous fut donnée, dès notre arrivée au Laboratoire militaire de recherches vétérinaires, d'isoler de nombreuses souches de bacille de Preisz-Nocard chez des chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse (épidémie de Pontoise 1929-1930), nous a incité à faire l'étude bactériologique de ce germe.

Cette étude a été entreprise à la lumière des précédentes recherches parmi lesquelles nous mentionnerons plus particulièrement celles de NOCARD, (lymphangite ulcéreuse des équidés), de PREISZ, GUINARD et CARRÉ (lymphadénie caséuse du mouton), de DASSONVILLE, NICOLLE, LOISEAU et FORGEOT (toxine), de PANISSET (action pathogène).

Nous fûmes guidé, pas à pas dans cette étude, par le vétérinaire Commandant URBAIN qui fut l'inspirateur de notre travail. C'est pour nous une bien grande joie de pouvoir lui exprimer ici toute notre gratitude pour la véritable affection qu'il nous témoigne.

Cette étude n'aurait pu être menée à bien sans la bienveillance et les conseils judicieux de notre directeur actuel, Monsieur le Vétérinaire Commandant CARPENTIER qui nous a donné toutes facilités pour élaborer notre travail. Qu'il trouve ici l'expression de notre vive reconnaissance.

Notre profonde gratitude doit être également exprimée à Monsieur le Professeur BESREDKA qui nous accueillit dans son Laboratoire de l'Institut Pasteur, à Messieurs CARRÉ, PANISSET, RAMON pour les conseils et les renseignements qu'ils ont bien voulu nous donner.

Enfin, je remercie vivement tous les vétérinaires militaires qui m'ont permis par leurs prélèvements, d'étudier un grand nombre de souches : Messieurs les Vétérinaires Commandants GERMA, COLETTE, BOUIN, Capitaines MAILLAND, BASCHUNG, IZARD, JONQUIÈRES et TRAIN, Lieutenant RICHEZ.

Nous avons adopté pour notre étude le plan suivant :

CHAPITRE I. — Historique de la découverte et de l'étude du Bacille de Preisz-Nocard.

CHAPITRE II. — Morphologie ; Colorations.

CHAPITRE III. — Associations microbiennes, conditions et caractères des cultures.

CHAPITRE IV. — Réaction du milieu et propriétés biochimiques.

CHAPITRE V. — Résistance et vitalité.

CHAPITRE VI. — Hémolysine.

CHAPITRE VII. — Action pathogène : 1^o Naturelle et voies d'introduction.

2^o Expérimentale et voies d'introduction.

3^o Conservation de la virulence.

4^o Augmentation et atténuation de la virulence.

CHAPITRE VIII. — Eléments filtrables.

CHAPITRE IX. — Toxine.

CHAPITRE X. — Immunisation, (vaccination, antiviral, bactériothérapie),

CHAPITRE XI. — Anticorps, (sérothérapie, agglutination, déviation du complément)

CHAPITRE XII. — Diagnostic expérimental.

CONCLUSIONS

CHAPITRE I

Historique de la découverte et de l'étude du bacille de Preisz-Nocard

En 1885, DIECKERHOFF et GRAWITZ décrivent l'agent microbien de la dermatite pustuleuse canadienne contagieuse ou acné contagieuse des Solipèdes, sous le nom d' « *Acné Bacillus* » et reproduisent la maladie chez le bœuf.

En 1891, PREISZ et GUINARD étudient, dans le laboratoire du Professeur ARLOING, une variété de pseudo tuberculose dont les lésions siégeaient exclusivement dans les reins d'un mouton et décrivent, comme agent causal, un fin bacille de 3 μ de longueur et prenant le Gram.

En 1892, ARLOING cite ce microbe comme producteur de lésions tuberculeuses chez le mouton.

En 1893, GUINARD et MOREY isolent le même bacille dans de nombreux pseudo-tubercules du poumon, du foie, et ganglions caséeux, chez le mouton.

En 1894, PREISZ fait une étude comparative de ce germe avec le microbe de la pseudo-tuberculose des rongeurs et le dénomme « bacille de la pseudo-tuberculose du mouton ».

En 1892 d'autre part, NOCARD étudie, chez le cheval une lymphangite ulcéreuse simulant le farcin morveux dont le pus, injecté dans le péritoine du cobaye mâle, provoque une orchite comparable à l'orchite morveuse (signe de Strauss). De 1892 à 1896, NOCARD examine 67 chevaux suspects de « farcin » ; l'inoculation du pus de 59 d'entre eux provoque une orchite chez le cobaye, alors que 43 seulement réagissent à l'épreuve de la malléine. Pour les 15 autres, la suppuration du lymphatique (comme celle de la vaginale des cobayes inoculés) a pour cause un bacille spécial, non encore décrit, facile à distinguer du bacille morveux par l'aspect de ses cultures et par ce seul fait « qu'il prend admirablement le Gram ».

NOCARD décrit, en 1896, les symptômes et l'évolution de la lymphangite ulcéreuse observée et fait une étude bactériologique détaillée du bacille qui en est l'agent, (morphologie, caractères culturels et action pathogène).

En 1896, RABE et KUTSCHER isolent dans le jetage d'un cheval morveux un bacille que HUEPPE donne comme identique à celui de PREISZ, et qui, par inoculation dans le péritoine, provoque une orchio-vaginalite chez le cobaye. KRUSE identifie le bacille de KUTSCHER à celui de BOLTON qui a été isolé de la terre.

En 1897, à Dantzig, TURSKI observe de nombreux cas de pseudo-tuberculose ovine, analogue à l'affection décrite par PREISZ.

La même année, MOLLEREAU présente, à la Société Centrale de Médecine vétérinaire, la relation clinique d'un cas de lymphangite ulcéreuse et NOCARD, qui, depuis sa précédente étude, a pu recueillir sept nouveaux cas, en cite trois particulièrement intéressants ; il trouva le bacille dans le jetage de l'un d'eux.

MOORE, en 1897, observe aux Indes Anglaises, une lymphangite des équidés, non morveuse, présentant certaines analogies avec la lymphangite ulcéreuse.

En 1898, NOCARD trouve, chez des moutons atteints de pneumonie infectieuse, un bacille analogue à celui de la lymphangite ulcéreuse (Lignières), bacille qu'il identifie, l'année suivante, avec celui de PREISZ.

En 1899, aux Etats-Unis, NOERGAARD et MOHLER étudient ce microbe comme agent de la lymphadénie caséreuse du mouton.

SIVORI, (1899) observe, en République Argentine, une broncho-pneumonie caséreuse du mouton, due au bacille de PREISZ-NOCARD, dont il fait l'étude bactériologique.

CHERRY et BULL (1899) isolent dans les ganglions caséux de moutons sacrifiés aux abattoirs de Melbourne, un bacille qu'ils identifient à celui de PREISZ.

En 1899, également, TRASBOT rapporte l'observation d'une jument atteinte de dermite pustuleuse contagieuse ; dans les pustules, NOCARD met en évidence un microbe analogue à celui de la lymphangite ulcéreuse et reproduit expérimentalement la maladie chez deux chevaux.

Cocu, (1899) trouve dans le rein d'une jument ayant présenté une fistule dorso-lombaire, des abcès dans le pus desquels, NOCARD isole le bacille de la lymphangite ulcéreuse.

En 1901, NOCARD, en Irlande, trouve dans les foyers caséux pulmonaires des veaux ayant succombé à la « lung-disease », un bacille ayant tous les caractères de celui de la lymphangite ulcéreuse. Ce bacille, saprophyte et présent dans les litières, est impuissant à envahir le tissu pulmonaire des veaux sains, mais, dès que les toxines de la pasteurella (« withe scour ») ont paralysé l'action défensive des cellules phagocytaires, il pénètre dans les tissus, s'y multiplie et y provoque la formation d'abcès enkystés, caséux. NOCARD recommande aux éleveurs irlandais l'emploi du sérum antidiphthérique à titre curatif.

En 1902, GILRUTH, en Nouvelle Zélande, isole chez le mouton, dans des lésions de pseudo-tuberculose, le bacille de Preisz-Nocard.

La même année, LIÉNAUX, en Belgique, décrit une dermite pustu-

leuse chez une génisse, avec de petits abcès sous-cutanés dans le pus desquels il trouve le bacille.

SCHWARZKOPF (1902) décrit sous le nom « d'ulcère tropical » des accidents survenus chez des chevaux américains, aux Philippines dont l'analogie avec la lymphangite ulcéreuse est évidente, d'après NOCARD et LECLAINCHE.

En 1903, JEANNOT, donne une description clinique minutieuse d'un cas de lymphangite ulcéreuse, due au bacille de Preisz-Nocard associé à des streptocoques et des staphylocoques.

En 1904, DARMAGNAC, signale pour la première fois, en Algérie, la lymphangite ulcéreuse ; l'affection se traduisait au pli de l'aîne, par une tuméfaction parsemée de pustules dont le pus renferme le bacille de Preisz-Nocard.

La même année J. NICOLAS trouve dans le jetage d'un cheval non morveux un cocco-bacille Gram positif, produisant une orchite chez le cobaye mâle par voie intra-péritonéale, germe qui semble bien être une forme courte du bacille de Preisz-Nocard.

En 1905, BRIDRE étudie une pseudo-tuberculose caséuse chez les agneaux. Il l'attribue à un bacille qu'il considère comme voisin du bacille de Preisz-Nocard, quoique présentant des caractères cultureux différents, (coagulation du lait, liquéfaction du sérum coagulé). En réalité, il s'agissait du bacille pyogène de Poëls.

VALLÉE, en 1905, reprenant l'idée de NOCARD pense à utiliser le sérum antidiphthérique chez un cheval atteint de lymphangite ulcéreuse, en l'injectant par voie hypodermique, à la dose de 40 à 50 cc., tous les quatre jours, et en applications locales sous forme de sérum desséché.

A la fin de l'année, 1905 DASSONVILLE montre que le bacille de Preisz-Nocard sécrète une toxine très active. Celle-ci ne s'identifie pas à la toxine diphthérique, quoique lui ressemblant beaucoup. Dans la discussion ayant suivi la communication de DASSONVILLE, VALLÉE rapporte les premières observations de CARRÉ concernant le rôle du Preisz-Nocard en pathologie ovine et BASSET donne le résultat de ses recherches entreprises avec CARRÉ, sur la toxine de ce microbe. GUÉRIN signale le polymorphisme du Preisz-Nocard dont il a trouvé une forme de streptothrix dans une culture en bouillon peptone glyciné.

En 1906, LÜTHRS isole le même bacille que DIECKERHOFF et GRABWITZ dans la dermatite pustuleuse contagieuse du cheval.

En 1907, IRR signale en Algérie, quatre cas de lymphangite ulcéreuse simulant la morve.

En 1908, SÈRES et GUILLAUME rapportent cinq observations de porcs présentant des abcès sous-cutanés et viscéraux, dans le pus desquels ils isolent un bacille qu'ils identifient à celui de Preisz-Nocard.

L'année suivante, LANGRAND et CHRÉTIEN isolent également ce bacille dans le pus d'abcès d'un porc.

CARRÉ et BIGOTEAU exposent en 1908, le résultat de leurs recherches cliniques, bactériologiques et expérimentales, concernant l'étude

de l'agent pathogène, cause d'affections variées, observées depuis plusieurs années dans un troupeau de moutons :

« Des jeunes agneaux meurent en grand nombre dans les semaines qui suivent la naissance ; un certain nombre d'entre eux présentent des abcès que l'on rencontre également sur les sujets de tout âge composant le troupeau. De nombreux adultes sont souvent atteints de « jaunisse » ; quelques-uns succombent parfois ».

Dans le pus du cordon ombilical des agneaux, dans le pus des abcès et des foyers de broncho-pneumonie des adultes, dans le pus enfin, de la plaie caudale infectée et des articulations malades, CARRÉ et BIGOTEAU, isolent, sans difficulté le plus souvent, un même microbe qu'il considèrent comme variété du bacille de Preisz-Nocard : « un bacille de la suppuration caséeuse de Nocard-Leclainche ». Ce bacille sécrète dans les milieux liquides une toxine très active, qui est, pour eux, la cause de l'affection connue sous le nom de *mal rouge* ou *Eaux-Rousses*. Cette toxine serait également la cause des lésions chroniques de cachexie aqueuse des ovidés.

En 1909, GLASSER dans une étude générale des pseudo-tuberculoses du mouton, consacre une part importante au Bacille de Preisz-Nocard.

En 1910, CARRÉ montre que l'on peut rencontrer, chez le mouton, dans les lésions purulentes d'origine variée, du bacille de Preisz-Nocard dont le pouvoir pathogène et l'action toxique sont essentiellement variables, mais dont les caractères morphologiques, culturaux et biologiques offrent les plus grandes analogies (Var. Bigoteau, Var. Rollet, Var. Champion, Var. Chessebœuf). Il prépare un vaccin qui permet d'immuniser les moutons contre les affections toxiques dues au bacille et même contre les abcès tardifs. Ses recherches lui permettent de formuler des règles pratiques de prophylaxie, (pansements ombilical et caudal, vaccination).

CARRÉ constate également, que la chèvre est aussi sensible que le mouton à l'infection par le bacille de la suppuration caséeuse, notamment dans le Sud-Est de la France.

Avec ELOIRE, il étudie chez des brebis en lactation, une véritable épidémie de mammite due au bacille de Preisz-Nocard. Pour lui, cette forme de mammite est d'origine endogène et ne constitue qu'une localisation spéciale du microbe.

MABILAIS, de Santiago, fait des constatations semblables au Chili.

En 1910, CARRÉ étudiant l'étiologie de la congestion intestinale chez le cheval et s'inspirant de ses précédentes observations chez les moutons, conclut qu'il s'agit non pas d'une affection du tube digestif, mais d'une infection générale de l'organisme surmené par le bacille de Preisz-Nocard ; les lésions constatées sont dues au poison sécrété par le microbe.

En 1910, MAZZINI ne peut reproduire la cachexie aqueuse en introduisant des cultures de bacilles de Preisz-Nocard (en sacs de colodion) dans le péritoine de brebis.

La même année, FINZI, étudiant le pouvoir antitryptique de divers sérums, constate que le Bacille de Preisz-Nocard modifie constamment le pouvoir antifermentatif du sérum sanguin de mouton. Il conclue de ses expériences que, dans la suppuration caséreuse du mouton, l'indice antitryptique du sérum est toujours diminué. La recherche des variations du pouvoir hémolytique (isolysines et hétérolysines) du sérum des moutons atteints de suppuration caséreuse, ne peut fournir aucune donnée utile à la clinique.

En 1910, également, L. PANISSET fait une étude détaillée de l'infection expérimentale du cobaye par le microbe de Preisz-Nocard et décrit, en particulier, les lésions observées après inoculation intracardiaque du bacille.

En 1911, G. MOREL étudiant l'adénite caséreuse du mouton, dans la région de Saint-Etienne, isole dans le pus ganglionnaire un coccus prenant le Gram, rappelant le staphylocoque par sa morphologie et ayant les caractères culturels, (sur bouillon) et pathogènes (cobaye mâle) du bacille de Preisz-Nocard.

CADÉAC (1911) considère le microbe de la suppuration caséreuse comme uniquement pyogène et vivant à l'état saprophytique en milieu extérieur. Ce microbe est capable de produire des abcès multiples de la peau et du tissu conjonctif sous-cutané, des lymphangites, avec ou non, des métastases suppuratives internes, chez le cheval, le mouton, le bœuf, le veau et le porc.

D'après CADÉAC, l'intoxication spontanée est presque nulle.

SIVORI, étudiant, en 1912, une maladie des ovidés en Argentine, la « mancha », trouve chez les animaux ayant succombé à cette affection, un bacille qui ne diffère pas, par ses caractères morphologiques, ses réactions de coloration, ses caractères culturels et son pouvoir pathogène, du bacille de la suppuration caséreuse. La « mancha » serait pour lui, une intoxication due à la toxine du bacille de Preisz-Nocard.

QUEVEDO, de Buenos-Ayres, décrit une paraplégie enzootique des moutons, voisine de l'affection précédente, mais contrairement à SIVORI, il l'attribue à une simple intoxication alimentaire, sans relations avec l'action de la toxine du bacille de Preisz-Nocard.

En 1912, M. NICOLLE, G. LOISEAU et P. FORGEOT étudient les facteurs de toxicité des bacilles de PREISZ-NOCARD : l'un constant, est représenté par la *substance fondamentale*, l'autre, inconstant, par la *toxine soluble*. Ces deux facteurs diffèrent absolument de ceux des bacilles diphtériques. Le sérum antitoxique expérimental, comme celui des chevaux atteints d'affections chroniques à microbes de Preisz-Nocard, neutralise sans difficulté la toxine soluble. Cette dernière propriété est mise à profit par P. FORGEOT et E. CÉSARI qui indiquent un procédé de toxino-diagnostic des affections à Preisz-Nocard.

En 1913, FONTAINE et MESPOULET étudient une épizootie de dermite pustuleuse contagieuse sévissant sur les chevaux de l'École de

Cavalerie de Saumur et isolent dans les croûtes, un bacille ayant les principaux caractères du bacille de Preisz-Nocard.

A plusieurs reprises, au cours des années 1913-1914, BOQUET trouve dans les lésions pulmonaires, hépatiques ou ganglionnaires et dans les fèces de moutons atteints d'une affection désignée en Algérie sous le nom de « El Roch » (cachexie et anémie progressive), un bacille doué d'un pouvoir hémolytique très élevé, qu'il considère comme identique au bacille de Preisz-Nocard. Il s'agit en réalité du bacille pyogène de Poëls (bien étudié depuis par SAÏD-BILAL, 1926).

En 1915, HALL et FISHER isolent des abcès de 11 chevaux et d'un veau, un bacille diphtéroïde, qui, étudié en 1916, par HALL et STONE paraît bien identique au bacille de Preisz-Nocard.

En 1916 GUERMONPREZ et DUJARRIC DE LA RIVIÈRE trouvent dans une plaie déchirée par fil de fer barbelé, chez un homme, le bacille de Preisz-Nocard.

MONTGOMÉRY (1916) montre la gravité de la lymphangite ulcéreuse chez les chevaux de l'Est Africain et prépare un vaccin contre la maladie.

VAN SACEGHEM, en 1916, étudie plusieurs cas de dermite ulcéreuse au Congo Belge ; il ne trouve pas de bacille de Preisz-Nocard dans les lésions mais un microcoque Gram négatif.

BRIDÉ fait des constatations analogues chez des chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse.

En 1917, de nombreux auteurs exposent le résultat de leurs observations concernant la lymphangite ulcéreuse du cheval, notamment : HAAN et AUGER, FAYET, WATSON qui reproduit la maladie par inoculation d'une culture de Preisz-Nocard sous la peau du paturon et montre les bons effets de la vaccinothérapie. NEWSON confirme ces données et expose ses premiers essais de sérothérapie. LÉPINAY recommande le formol dans le traitement de la lymphangite ulcéreuse et TRUCHE préconise la bactériothérapie (injections de bacilles de Preisz-Nocard tués par l'alcool-éther).

En 1918, LAGNEAU donne des aperçus intéressants sur les lymphangites, la lymphangite ulcéreuse en particulier. BRIDÉ préconise comme traitement de la lymphangite ulcéreuse la leucocytothérapie. MIDDELDORF recommande l'autohémothérapie. THOMAS obtient de bons résultats par l'autopyothérapie, que BELIN étudie depuis 1917. WATSON donne de nouveaux renseignements sur la vaccinothérapie et la sérothérapie, renseignements confirmés par HINES.

NEWSON présente un rapport sur la maladie à la Conférence Vétérinaire Franco-Britannique du 15 Novembre 1918.

JARVIS montre que les tiques sont capables d'inoculer au cheval une lymphangite dont les symptômes relèvent de la lymphangite ulcéreuse et de la nécrose des extrémités.

DUFORT étudie la lymphadénie caséuse du mouton au Brésil.

En 1919, les travaux du Centre Militaire de Recherches, institué à l'École d'Alfort, depuis fin 1917, sont exposés et donnent diverses

précisions sur la lymphangite ulcéreuse. MULLIE étudie la pathogénie, la symptomatologie, la thérapeutique et la prophylaxie de l'affection. DELMER résume ses diverses observations concernant le traitement de la maladie. KNOWLES préconise un vaccin au chlorure d'éthyle. WATSON recommande une méthode « toxine-antitoxine » pour poser le diagnostic de lymphangite ulcéreuse. VAN SACEGHEM traite avec succès l'affection par des injections de pus émulsionné dans de l'éther et de l'huile, et en créant des abcès sous-cutanés spécifiques, GUILLAUME et BITTNER montre que le sérum polyvalent exerce une action locale sur les ulcères à bacilles de Preisz-Nocard. BELIN résume 247 observations de lymphangite bacillaire, recueillies à l'hôpital vétérinaire de Chaumont, montrant les résultats qu'il a obtenus avec la pyothérapie. TASKIN traite la maladie par des injections intramusculaires de biiodure de mercure. STRAUS et WIGHT admettent comme origine de la lymphangite ulcéreuse, outre les traumatismes, les lésions cutanées parasitaires, (gale). LEIBOLD fait un rapport sur la lymphangite ulcéreuse sévissant chez les chevaux du corps expéditionnaire Américain.

BIGOTEAU (1919) pense que la tremblante du mouton serait une des multiples manifestations de l'infection par le bacille de Preisz-Nocard. Cette opinion sera réfutée avec raison par CARRÉ en 1923

En 1920, BOQUET expose les résultats essentiels de l'étude de la lymphangite ulcéreuse, faite au Centre Militaire de l'Ecole d'Alfort et à l'Institut Pasteur. Ses expériences lui permettent de reproduire la maladie sous sa forme aiguë et chronique. Il passe en revue les divers traitements mis en œuvre et recommande la toxinothérapie de VALLÉE et BOSSAVY, la bactériothérapie de TRUCHE. INGUENEAU obtient de bons effets thérapeutiques en injectant aux malades, du sérum d'anciens lymphangiteux. TASKIN traite avec succès la maladie par la pyothérapie et LEMÉTAYER utilise un pyo-vaccin iodo-éthère. WATSON apporte de nouvelles remarques sur les sérums immunisants, la toxine et l'antitoxine du bacille de Preisz-Nocard. MANNINGER, en Hongrie, ne trouve que deux fois ce microbe sur 9 cas de lymphangite ulcéreuse, mais rencontre un diplo-steptocoque.

En 1922, MINETT affirme la possibilité de préparer un sérum antimicrobien et antitoxique, en utilisant des bacilles de Preisz-Nocard tués par la chaleur ou l'alcool-éther. Il étudie divers bacilles diphtéroïdes du cheval.

TSUGE montre l'identité bactériologique du bacille de Preisz-Nocard et du bacille de l'acné de Grawitz.

En 1922, ELOIRE rappelle les observations qu'il a faites en 1910, sur une véritable épizootie de mammite mortelle chez des brebis. Il l'attribue au bacille de Preisz-Nocard, infectant les litières, et il signale les bons effets du vaccin Carré.

De décembre 1910 à 1922, CARRÉ n'eut pas l'occasion de rencontrer le bacille de Preisz-Nocard chez le mouton. En 1923, il montre que l'injection intra-palpébrale d'extraits de cultures du bacille constitue un excellent procédé pour dépister les formes latentes d'infection

par cet agent pathogène. Il expose également les heureux résultats obtenus par injections sous-cutanées de deux vaccins chauffés qu'il prépare. Carré établit d'autre part, les différences existant entre le bacille de Preisz-Nocard et le coccus d'AYNAUD, tous deux agents de la suppuration caséuse du mouton, le second étant plus fréquent chez les jeunes sujets que chez les adultes. Ce coccus n'est d'ailleurs, pour AYNAUD, qu'un staphylocoque agent de la botryomycose.

En 1923, TRAUM décrit deux cas de lymphangite des bovidés chez lesquels il isole un bacille identique au bacille de Preisz-Nocard. SPRAY trouve dans les lésions purulentes du poumon et des adénites caséuses du mouton, un germe Gram positif, qu'il différencie du bacille de Preisz-Nocard.

En 1924, CAUCHEMEZ montre combien la maladie caséuse est fréquente chez les moutons argentins congelés.

Mademoiselle LE SOUDIER et VERGE mettent en évidence, à deux reprises différentes, un bacille de Preisz-Nocard chez des volailles atteintes de diphtérie aviaire. Ce bacille se comporte dans ces cas, comme un microbe de sortie, sans action pathogène réelle.

En 1925, CAROUGEAU signale l'extrême fréquence de la lymphangite ulcéreuse des équidés à Madagascar et incrimine les tiques comme agents inoculateurs de l'affection. BOURBON signale chez le mouton des arthrites et des mammites dues au bacille de Preisz-Nocard, traitées avec succès par le vaccin Carré.

BROCQ-ROUSSEU et A. URBAIN (1925) montrent que, pour vacciner des cobayes, la toxine du bacille de Preisz-Nocard formolée n'a pas de supériorité sur la toxine non formolée, rendue atoxique par la chaleur.

En 1926, CAUCHEMEZ et A. URBAIN ne trouvent que du bacille de Preisz-Nocard dans les adénites caséuses de moutons congelés provenant du Chili ; ce bacille conserve non seulement sa vitalité mais encore sa virulence et sa toxicité, malgré la congélation portée à -15° - 20° . HOWART et YOUNG mettent également le bacille en évidence dans tous les cas d'adénites caséuses observés chez des moutons congelés. (Ascension et Sainte-Hélène). ALTARA signale la suppuration caséuse chez le mouton en Sardaigne et étudie une souche de bacille de Preisz-Nocard isolé d'un abcès chez une chèvre. BERGEON cite des cas d'arthrites du mouton, dues au bacille de Preisz-Nocard, observés au Tonkin. BOUHET et PLESSY relatent les bons effets du vaccin Carré chez les moutons atteints de suppuration caséuse.

En 1927, CARRÉ, étudiant les divers microbes pyogènes des petits ruminants, montre les caractères différentiels du bacille de Preisz-Nocard et du bacille pyogène de Poëls, agent étudié par BRIDRÉ et BOQUET. D'accord avec AYNAUD, il considère le coccus décrit par cet auteur, comme un staphylocoque.

En 1928, MARCHISOTTI constate la présence constante du bacille de Preisz-Nocard dans les lésions de suppuration caséuse des moutons d'Argentine. ROBINSON décrit un ictère observé chez les mou-

tons ayant reçu dans la veine, une suspension saline de bacilles de Preisz-Nocard.

TEPPAZ (1928) signale un cas de guérison de la lymphangite ulcéreuse par injections intraveineuses de biiodure de mercure.

DE KOCK et FOURIE (1928) décrivent un cas de pseudo-tuberculose des muscles et du myocarde chez le mouton, qui, malgré une étude bactériologique incomplète, semble être dû au bacille de Preisz-Nocard.

En 1929, BARRIER traite avec succès, au Maroc, la lymphangite ulcéreuse avec le sérum antigangréneux, mais sans établir de diagnostic bactériologique.

A. URBAIN montre que sous l'influence de certains germes, la toxine du bacille de Preisz-Nocard est modifiée.

DESCAZEUX étudie la maladie caséuse du mouton en Patagonie, et dans tous les cas, il ne peut mettre en évidence qu'un seul germe : le bacille de Preisz-Nocard. CRAMP fait les mêmes constatations aux Nouvelles-Galles du Sud ; EACHRAN et THORPE montrent la gravité économique de la maladie en Australie.

GRATH isole le bacille de Preisz-Nocard dans le pus des plaies cutanées des moutons, provoquées par la tondeuse. SEDDON, en collaboration avec BELSCHNER, ROSE et BLUMER montrent que la propagation de la lymphadénie caséuse du mouton est due surtout aux blessures cutanées (tonte, morsures, etc...). WOODRUFF, OXER et GREGORY confirment ces faits.

MAGNUSSON isole des formes pyohémiques du mouton, un bacille : *B. purifaciens* (Christiensen), qu'il différencie du bacille de Preisz-Nocard.

LÉNIENT pense que le bacille de la suppuration caséuse diffère de celui de lymphangite ulcéreuse tout au moins dans son pouvoir pathogène. Il signale à nouveau les bons résultats obtenus chez le mouton, par l'emploi du vaccin Carié.

LIGNIERES étudie les diverses voies d'introduction du bacille de Preisz-Nocard chez le mouton et montre que ce germe peut présenter des éléments filtrables.

PELLETIER (1929) adoptant l'hypothèse de BIGOTEAU et BISSAUGE., attribue la méningite des agneaux à une intoxication par le bacille de Preisz-Nocard et obtient d'excellents résultats dans le traitement de cette affection par le vaccin de Carré.

En 1930, CASSAMAGNAGHI apporte des précisions sur la morphologie et la filtrabilité du bacille de Preisz-Nocard, et sur les infections par la voie cutanée.

Avec A. URBAIN et M. VALLÉE, nous constatons également que le bacille de Preisz-Nocard, d'origine équine, peut posséder des éléments filtrables et nous montrons la longue durée de vitalité de ce microde.

FORGEOT (1930) rappelle les différences existant entre les bacilles atoxiques de Preisz-Nocard et les bacilles atoxiques diphtériques.

BUXTON expose le résultat de ses expériences concernant l'action

pathogène du bacille de Preisz-Nocard pour les moutons britanniques. MARSH (1930) fait une étude d'ensemble de la lymphadénie caséuse en Australie.

BOTTGARDT et RIGLOS (1930) décrivent certains caractères cultureux et biologiques du bacille de Preisz-Nocard.

DESCAIZEAUX (1930) signale que les moutons atteints de lymphadénie caséuse réagissent localement à une injection intradermique de toxine de bacille de Preisz-Nocard. CÉSARI constate, de même, que des cobayes inoculés antérieurement avec des bacilles virulents et recevant ensuite du liquide de filtration de cultures anciennes, (*Preisznocardine*») présentent des signes d'hypersensibilité.

MAILLAND expose le résultat de ses observations recueillies au cours d'une épizootie de lymphangite ulcéreuse et montre que la réaction de SCHICK est incapable de déceler les chevaux particulièrement réceptifs au bacille de Preisz-Nocard.

En 1931, CASSAMAGNAGHI confirme les expériences de CÉSARI chez le cobaye et montre que chez le mouton, l'inoculation intradermique de « Preisznocardine » permet de reconnaître les animaux atteints de lymphadénie caséuse.

CRAIG (1931) observe, à diverses reprises, chez le mouton, des otites moyennes suppurées dues au bacille de Preisz-Nocard avec méningo-encéphalite.

COLETTE (1931) signale plusieurs cas de guérison de chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse par un vaccin anti-Preisz-Nocard, chauffé, préparé par le Laboratoire Militaire de Recherches Vétérinaires.

BULL et DICKINSON (1931) indiquent un mode de préparation d'émulsion de bacilles de Preisz-Nocard pour titrer la virulence de ce microbe chez le cobaye.

SEDDON, CARNE (1931) montrent que le bacille de Preisz-Nocard n'est pas le seul germe donnant une coloration verdâtre du pus chez le mouton. Avec ROSS, CARNE établit qu'en Australie, le bacille est la cause la plus fréquente de lymphadénie caséuse (60 fois sur 62 cas), et que l'association de ce germe et d'*Æsophagostomum Columbianum* n'entraîne pas de lésions particulières à ce microbe.

ROTTGARDT (1931) signale la symbiose du bacille de Preisz-Nocard et du bacille pyogène de POËLS chez le mouton, et étudie les propriétés du premier germe, en particulier de sa toxine, seul et en collaboration avec SCASSO.

MORCOS (1931) au Caire, décrit un bacille trouvé dans des lésions du cheval et du mulet et qui lui semble identique au bacille de Preisz-Nocard.

HARWEY et DAUBNEY (1931) signalent, chez le mouton, la présence de bacilles de Preisz-Nocard dans des abcès du cerveau.

CARPANO (1931), observant la lymphangite ulcéreuse du cheval en Égypte, fait une étude bactériologique du bacille de Preisz-Nocard qu'il a isolé.

En 1932, cet auteur signale chez les chameaux une affection (abcès sous-cutanés et des lymphatiques) due à un *Corynebacterium* du type b. de Preisz-Nocard.

En 1932, CARNE conclut de ses expériences que l'intradermo-réaction à la preisznocardine n'est pas un moyen sûr pour dépister les animaux atteints de lymphadénie caséreuse. Il confirme la présence du bacille de Preisz-Nocard dans les matières fécales mais ne peut infecter expérimentalement les moutons par voie digestive. Enfin, il montre la nécessité de désinfecter les tondeuses et étudie l'action de divers antiseptiques sur le bacille de Preisz-Nocard.

Avec A. URBAIN, nous observons le phénomène de floculation dans les mélanges de toxine et de sérum anti-Preisz Nocard. Avec G. CARPENTIER, nous rappelons la persistance de la lymphangite ulcéreuse chez les chevaux de l'Armée et indiquons l'aide que le laboratoire peut apporter au clinicien pour lutter contre la maladie.

POISSON et BUCK (1932) après avoir rappelé l'historique de la maladie à Madagascar, signalent trois cas intéressants de lymphangite ulcéreuse du cheval et montrent que l'affection peut être transmise par des tiques.

Dans une thèse récente, ABADIE résume les données cliniques de la maladie caséreuse du mouton.

DAINES et AUSTIN trouvent dans les lésions cutanées de bovins réagissant à la tuberculine, un microbe qui rappelle le bacille de Preisz-Nocard par ses caractères culturels et pathogènes, mais qui est doué de propriétés acido-résistantes.

WATSON signale trois cas d'infection par le bacille de Preisz-Nocard chez des vaches récemment vélées présentant de la fièvre, des signes cardiaques et des tuméfactions articulaires avec synovie purulente. Le bacille fut trouvé dans les lésions de l'endocarde du ventricule gauche.

En 1933, BULL, isole des lésions cutanées et d'une adénite préscapulaire d'une vache, un bacille ayant les caractères morphologiques, culturels et biologiques du bacille de Preisz-Nocard.

En collaboration avec DICKINSON, BULL (1933) isole facilement le bacille de Preisz-Nocard dans le solo où sont parqués des moutons atteints de lymphadénie caséreuse.

FOUTELA (1933) étudie la lymphadénie caséreuse du mouton en République Argentine.

HUNTER (1933) expose le résultat de six années d'observations de la lymphadénie caséreuse (Magellan, Terre de feu).

CHAPITRE II

Morphologie et colorations

1° Aspect du pus

Avant d'étudier la morphologie du Bacille de Preisz-Nocard dans le pus et les cultures, nous rappellerons les caractères du pus le renfermant chez les diverses espèces animales.

Chez le *cheval* (NOCARD), il est d'abord épais, blanc et grumeleux, puis liquide, huileux, jaunâtre ou sanguinolent. Suivant les échantillons examinés, nous avons rencontré ces divers aspects.

Chez le *mouton*, les abcès du tissu conjonctif sous-cutané renferment un pus épais, crémeux, jaune verdâtre, ayant souvent la consistance de pâte de guimauve (CARRÉ et BIGOTEAU, 1908). Dans les foyers caséeux pulmonaires du mouton (SIVORI, 1899), les abcès sont constitués par une enveloppe blanchâtre, d'aspect fibreux ; leur contenu est de consistance caséuse, à teinte légèrement verdâtre ; quelquefois ce contenu est concret et paraît formé de couches concentriques avec un noyau central. Beaucoup de nodules crient sous l'instrument tranchant et donnent au toucher la sensation d'une substance calcaire.

Cette coloration verdâtre du pus des moutons n'est pas particulière au pus renfermant uniquement du bacille de Preisz-Nocard. CARNE et SEDDON ont attiré récemment (1931) l'attention sur ce point et ont montré que cette coloration peut être retrouvée dans les lésions caséuses stériles ou provoquées par divers bacilles, (pyogènes, nécrose, diphtéroïdes), par *Actinomyces bovis* et *Staphylococcus aureus*.

Chez le *porc*, (SÉRÈS et GUILLAUME, 1908), les abcès sont constitués par une coque fibreuse, épaisse, blanchâtre et lisse, renfermant un pus crémeux, épais, compact et franchement verdâtre ; le pus est parfois un peu liquide dans certains abcès.

2° Richesse du pus en bacilles

Pour NOCARD, le pus d'abcès de lymphangite ulcéreuse est très riche en microbes. D'après FAYET (1917), le bacille ne se trouve en petit nombre que dans certains abcès caséux, à pus bien lié, blanchâtre ou jaune-verdâtre ; il ne se rencontre pas dans les abcès, franchement hémorragiques ou renfermant peu de pus.

D'après les travaux du Centre Militaire de Recherches de l'Ecole d'Alfort, (1919), la recherche du bacille de Preisz-Nocard dans les frottis du pus est souvent négative ; on peut examiner plusieurs préparations sans en trouver et leur nombre est parfois très faible. Lorsque l'examen porte sur une lésion ouverte, la présence de germes secondaires est de nature à détourner l'attention vers des microbes accessoires. BOUQUET (1920) a également constaté cette rareté des bacilles dans le pus, surtout lorsqu'il s'agit d'abcès chroniques. Nous avons pu faire des constatations absolument analogues. Il faut examiner attentivement les frottis pour déceler la présence des bacilles. Parfois nous n'avons pu en mettre en évidence dans des pus qui, ensemencés, donnaient cependant une culture pure de ces bacilles.

3° Morphologie du bacille de Preisz-Nocard dans le pus

Nous ne pouvons que citer la description remarquable du microbe qui a été faite par NOCARD (1897) :

« De nombreux microbes sont englobés par les cellules ; le plus grand nombre pourtant sont libres ; ils sont généralement disposés en amas, serrés, enchevêtrés les uns dans les autres ; on en trouve aussi d'isolés, entre les cellules ou à leur intérieur. La plupart sont nettement bacillaires, assez épais, courts, à extrémités arrondies ; souvent alors ils sont disposés parallèlement, l'un à côté de l'autre, en forme de peigne à dents courtes et serrées ; parfois au contraire, ils sont en séries linéaires, formées d'articles très courts dont l'épaisseur va augmentant jusqu'à l'article terminal qui se renfle en forme de crosse ; d'autres encore, légèrement effilés aux extrémités, ont leur partie centrale renflée ; d'autres enfin, ont l'aspect de courtes bactéries arrondies ou légèrement ovoïdes. Ces formes variées se rencontrent dans le même amas de microbes, et parfois même presque dans le même leucocyte ».

Ce polymorphisme extraordinaire a été signalé par tous les auteurs qui ont étudié le bacille chez le mouton (NØRGAARD et MOHLER, CARRÉ, DESCAZEUX....). Le premier, PREISZ (1894) décrit des formes en massues ou en haltères (certains bacilles présentant des stries transversales), et montra la ressemblance morphologique de ce microbe avec le bacille de Lœfler. SIVORI (1899) signale également que certains bacilles sont épais et présentent des stries transversales claires ; il a rencontré assez souvent des diplobacilles et certaines formes très longues se présentant comme des strepto-bacilles. Dans les pus frais, CARRÉ et BIGOTEAU (1908) décrivent la bacille comme un fin bâtonnet ; dans certains cas il s'épaissit, se renfle en forme de massue ; dans les abcès à la fin de leur évolution, il affecte nettement la forme de coccus. Chez le porc, SÉRÈS et GUILLAUME (1908) ont constaté les mêmes aspects variés : petits bacilles, très courts, assez épais, à extrémités arrondies ; beaucoup affectent la disposition « en dents de peigne » ; d'autres sont disposés en chaînettes.

CAUCHÉMEZ et URBAIN (1926), sur 15 pus de mouton examinés, ont trouvé 10 fois le bacille de Preisz-Nocard sous une *forme courte* (de 1 à 2 μ de long sur 0 μ , 8, de large) 2 fois sous une *forme moyenne* (de 3 à 4 μ sur 0u, 8), et 3 fois sous une *forme longue* (de 4 à 5 μ).

Sur 39 pus équins renfermant du bacille de Preisz-Nocard, que nous avons examinés depuis 1930, nous n'avons jamais rencontré de formes longues mais presque toujours des formes courtes, associées parfois à des formes moyennes. Dans une dizaine de cas, (abcès chroniques), nous n'avons trouvé que des germes cocciformes.

4°. — Morphologie du bacille de Preisz-Nocard dans les cultures

En général, la morphologie du bacille est identique dans les milieux de cultures et dans le pus. NOCARD (1896-97) montra le premier l'influence de l'addition de glycérine aux milieux sur la morphologie du microbe qui prend l'aspect d'un cocco-bacille. GUÉRIN (1907), ayantensemencé sur bouillon peptone ordinaire additionné de 4 % de glycérine, un bacille provenant de lésions pseudo-tuberculeuses d'un mouton a constaté qu'il se développait sous forme de streptothrix à longs filaments, très ramifiés. SIVORI (1899) signale en bouillon, des bacilles ayant la forme d'un point d'interjection, forme que nous avons très souvent remarquée. Ce même auteur a trouvé dans le voile qui se développe sur bouillon, des formes plus grandes que normalement, semblables aux formes d'involution du bacille tuberculeux, telles qu'elles furent décrites par METCHNIKOFF, NOCARD et ROUX. Pour CARRÉ et BIGOTEAU (1908) au contraire, le voile se montre composé de microbes ayant l'aspect de cocci à un faible grossissement (semblables à des staphylocoques) ; à plus fort grossissement, l'aspect change et les microbes ressemblent plutôt alors à un diplocoque.

Dans les cultures récentes sur bouillon Martin, nous avons, en général, constaté des formes bacillaires courtes analogues à celles décrites dans le pus ; dans les vieilles cultures, nous n'avons que très rarement rencontré des formes longues, ne dépassant jamais 5 ou 6 μ ; les formes cocco-bacillaires sont les plus fréquentes ; dans des cultures très anciennes (de 6 mois à 1 ans), on ne trouve presque plus que des cocci. Nous n'avons jamais trouvé de formes ramifiées.

Sur gélose, les formes bacillaires sont considérablement réduites et l'on retrouve surtout des cocco-bactéries (SÉRÈS et GUILLAUME, 1908 ; DESCAZEUX, 1929). C'est ce que nous-même avons toujours observé.

Sur les milieux additionnés de sérum frais de cheval, les bacilles semblent plus grêles et plus ténus que sur milieux ordinaires ; ils sont en général, agglutinés en amas.

5° Coloration du bacille de Preisz-Nocard

Le Bacille de Preisz-Nocard se colore bien par les colorants basiques (thionine, bleu de toluidine, bleu de méthylène, fuchsine, violet cristal, violet de gentiane). Il reste coloré par la méthode de GRAM.

En utilisant la méthode préconisée par LANGER et KRÜGER (1) pour différencier le *Corynebacterium commune* d'HOFFMANN du bacille diphtérique, nous avons constaté que le bacille de Preisz-Nocard reste coloré en violet s'il provient de cultures récentes, mais il se décolore très facilement si les cultures datent de plus de 6 à 8 jours.

Dans ces cultures d'ailleurs, il ne résiste pas, non plus, à l'alcool acétone, ou reste coloré très irrégulièrement, si l'on emploie la méthode classique de GRAM.

Mademoiselle LE Soudier et VERGE (1924), en colorant les bacilles de Preisz-Nocard, au moyen d'une solution très diluée de bleu de méthylène, ont mis en évidence, au sein du protoplasma bactérien, des granulations métachromatiques. Celles-ci apparaissent sous forme de points plus teintés, répartis de préférence aux extrémités du germe. Le protoplasma restant est très faiblement coloré. Ces qualités tinctoriales sont l'apanage des bactéries que LEHMANN et NEUMANN ont proposé de grouper sous le nom de « *Corynebacterium* » ; c'est pourquoi EBERSON dénommé le bacille de Preisz-Nocard : « *Corynebacterium pseudo-tuberculosis ovis* (Preisz) ».

Ces granulations intraprotoplasmiques ont été signalées par MINNETT (1922), LIGNIÈRES (1929) et CASSAMAGNAGHI (1930).

Nous les avons régulièrement observées en colorant les bacilles (2) au bleu de méthylène dilué ou au bleu de méthylène potassique de LOEFFLER :

Solution saturée de bleu de méthylène dans	
alcool à 90°.....	30 cc.
Solution de potasse à 1/10.000.....	100 cc.

On colore quelques minutes, on lave à l'eau puis on traite rapidement par la solution de GRAM. Les granulations sont noir-verdâtre et les bacilles verdâtres.

Enfin, notons que le bacille de Preisz-Nocard, dans le pus ou en culture, n'est pas acido-résistant ; il ne reste pas coloré par la méthode de ZIEHL. A ce propos, nous rappellerons que DAINES et HAUSTIN (1932) ont trouvé dans les ulcères cutanés de bovins réagissant à la tuberculine, un bacille acido-résistant ayant les caractères du bacille de Preisz-Nocard.

(1) Colorer pendant 2 minutes dans le violet de gentiane ; faire agir la solution de Lugol pendant cinq minutes ; décolorer par l'alcool absolu pendant 15 minutes, recolorer par la solution de Ziehl diluée pendant une seconde ; laver.

(2) Il y a intérêt à prélever les bacilles en culture récente sur gélose-sérum ou sérum coagulé.

6° Caractères de mobilité

Le bacille de Preisz-Nocard examiné à l'état frais, soit dans le pus, soit en culture, est toujours immobile. Nous n'avons jamais pu mettre en évidence la présence de cils en utilisant la méthode de LÆFFLER.

7° Sporulation

Le bacille de Preisz-Nocard ne forme pas de spores. Les colorations, suivant la méthode de MÖLLER, ne nous ont jamais permis d'en constater.

CHAPITRE III.

Associations Microbiennes. conditions et caractère des cultures.

L'ensemencement, sur divers milieux de pus renfermant le bacille, de Preisz-Nocard ne donne, en général, une culture de ce germe qu'après un séjour de 2 ou 3 jours à l'étuve. Parfois, nous avons dû attendre le 5^e ou le 6^e jour pour voir apparaître la culture. C'est pourquoi il faut se garder de conclure à l'absence de ce bacille dans le pus ensemencé, en examinant prématurément les tubes de culture.

CARRÉ et BIGOTEAU, (1908) attribuent ce retard de développement à une action microbicide du pus sur le microbe et conseillent d'ajouter du sérum aux milieux usuels pour hâter la culture.

Comme nous l'avons vu précédemment, le pus est souvent pauvre en bacilles ; aussi NØRGAARD et MOHLER (1899) ont-ils recommandé d'ensemencer le pus, prélevé à la périphérie des lésions où à la face interne de la coque de l'abcès.

1. — Associations microbiennes.

Le bacille de Preisz-Nocard, en particulier dans le cas d'abcès ouvert, peut coexister dans le pus avec d'autres microbes qui gênent son développement. Bien que le contenu des abcès ouverts soit souvent pur, même 24 heures après l'ouverture de l'abcès (BOQUET, 1920, MAILLAND, 1930), nous avons parfois trouvé d'autres germes associés au bacille spécifique dans les examens de pus provenant de lymphangite ulcéreuse. Si nous consultons les statistiques du Laboratoire Militaire de Recherches Vétérinaires, nous voyons que le bacille de Preisz-Nocard a été trouvé associé au cryptocoque 2 fois en 1922 et 7 fois en 1923. En 1924, dans 14,5 % des pus examinés, il est associé au cryptocoque et, dans 6 % des cas, il est trouvé soit avec du streptocoque, soit avec du staphylocoque, soit avec ces deux microbes. En 1925, il est associé avec ces divers germes dans 20 % des cas.

Sur 41 prélèvements effectués par MAILLAND et examinés au Laboratoire Militaire en 1929 ou en 1930, nous avons trouvé trois fois le bacille associé au streptocoque et une fois au staphylocoque. Il est

souvent très difficile de pouvoir isoler le bacille en culture pure lorsqu'il est associé à ces germes et nous avons l'impression que dans certains cas nous n'avons pu le mettre en évidence, bien qu'existant réellement, lors de prélèvements tardifs renferment une flore microbienne variée (*bacille pyocyannique*, *bacillus subtilis*, bacilles Gram-négatif du type *paratyphique B.* ou *Coli. B. protéus* — ceci assez rare —)

Pour nous rendre compte de l'action de divers microbes sur le développement du bacille de Preisz-Nocard, nous avons opéré de la manière suivante :

1ère Série d'expériences : Plusieurs tubes de bouillon Martin (pH = 7, 4) sont ensemencés avec une goutte d'une culture en bouillon de 24 heures de bacille de Preisz-Nocard puis chacun d'entre eux reçoit une goutte d'une culture de 24 heures de l'un des germes suivants :

Streptocoque, staphylocoque, bacille pyocyannique, (I) bacille paratyphique B équin, colibacille équin, pasteurella équine. Les tubes de culture sont portés à l'étuve à 37° puis sont examinés chaque jour, et réensemencés le quatrième jour sur gélose. Les résultats obtenus furent les suivants :

Preisz-Nocard + Streptocoque : après 24 heures, léger voile à la surface du bouillon, culot de streptocoques, les deux germes semblent à égalité et poussent tous deux sur gélose le quatrième jour.

Preisz-Nocard + Staphylocoque : le voile ne se forme que le troisième jour, les bacilles sont peu nombreux, les staphylocoques dominent. Sur gélose, une colonie de bacilles pour une vingtaine de colonies de staphylocoques.

Preisz-Nocard + Bacille pyocyannique : aucun voile n'apparaît. Sur gélose, il n'y a que des colonies de bacille pyocyannique. On ne trouve que de rares bacilles de Preisz-Nocard ayant un aspect granuleux, le quinzième jour.

Preisz-Nocard + B. Paratyphique B : pas de voile. De très rares bacilles de Preisz-Nocard sont trouvés agglutinés le quatrième jour. Le bacille paratyphique B. pousse seul sur gélose.

Preisz-Nocard + Colibacille : Mêmes constatations qu'avec le Para B.

Preisz-Nocard + Pasteurella : un voile abondant se forme le deuxième jour, le bacille de Preisz-Nocard domine, peu de pasteurella. Sur gélose, très nombreuses colonies du premier germe ; rares colonies de pasteurella.

2^{me} Série d'expériences : Des tubes de cultures en bouillon de bacilles de Preisz-Nocard, sont ensemencés après 24 heures d'étuve (voile en formation) respectivement avec une goutte des souches précédentes

(1) Ces trois germes provenaient de souches isolées d'abcès de lymphangites du cheval.

(culture en bouillon de 24 heures). Les tubes portés à l'étuve sont examinés chaque jour etensemencés sur gélose le quatrième jour. Nous avons noté les résultats suivants :

Preisz-Nocard + streptocoque : le voile persiste, les deux germes se développent à égalité sur gélose.

Preisz-Nocard + staphylocoque : le voile tombe le deuxième jour ; sur gélose, les colonies de staphylocoques dominent, les bacilles sont très rares.

Preisz-Nocard + pyocyanique : le voile disparaît, les bacilles de Preisz-Nocard sont peu nombreux et cocciformes, les pyocyaniques sont très abondants sur gélose.

Preisz-Nocard + paratyphique B. : le voile tombe après 24 heures ; sur gélose, il y a surtout des colonies de paratyphiques et très peu de bacilles de Preisz-Nocard qui ont l'aspect de cocci.

Preisz-Nocard + colibacille : le voile persiste, les germes sont à égalité dans le bouillon et sur gélose.

Preisz-Nocard + pasteurella : le voile persiste, les bacilles de Preisz-Nocard sont un peu moins abondants que les pasteurella, dont les colonies sont plus nombreuses sur gélose.

3^{me} Série d'expériences :

On ensemence une goutte de culture de 24 heures en bouillon, de bacilles de Preisz-Nocard sur des tubes de bouillonensemencés la veille, respectivement avec chacune des souches utilisées dans les expériences précédentes.

Les tubes sont examinés chaque jour, après séjour à l'étuve, et leur contenu est réensemencé après quatre jours, sur gélose inclinée.

Les résultats suivants furent observés :

Streptocoque + Preisz-Nocard : très léger voile le troisième jour ; voile très abondant le dixième jour. Les colonies de staphylocoques sont un peu plus nombreuses que celles des bacilles, sur gélose.

Bacille Pyocyanique + Preisz-Nocard : Aucun voile ne se forme ; les colonies de pyocyaniques se développent presque exclusivement sur gélose.

Bacille Paratyphique B, ou colibacille + Preisz-Nocard : Aucun voile n'apparaît, les germes sont à égalité le deuxième jour, mais sur gélose les bacilles Gram négatif dominant.

Pasteurella + Preisz-Nocard : Un voile léger se forme dès la 24^e heure et persiste. Les colonies de bacilles de Preisz-Nocard dominent sur gélose.

Ces trois séries d'expériences ont été répétées en augmentant le nombre des gouttes de cultureensemencée (II et III) ; les résultats furent identiques.

Nous pouvons conclure de ces expériences que le streptocoque et la pasteurella n'exercent aucune action empêchante sur le développement du bacille de Preisz-Nocard ; le staphylocoque peut retarder sa culture, le bacille para-typhique B. et le colibacille peuvent gêner et même masquer son développement, enfin le bacille pyocyanique a une action empêchante marquée sur sa culture. Ces trois derniers germes pouvant venir souiller facilement une plaie ouverte des extrémités chez le cheval, on conçoit que dans ces conditions, la recherche du bacille de Preisz-Nocard soit difficile sinon impossible.

2° Conditions des cultures

Le bacille de Preisz-Nocard cultive entre 17-20° et 42°.

La température optima est comprise entre 34° et 37°. A 43° sa culture est arrêtée (NOERGAARD et MOILER, 1899). D'après nos constatations, il ne se développe que très lentement au dessous de 15-17° et ne se développe pas du tout au dessous de 10°.

Le bacille de Preisz-Nocard est aéro-anaérobie. Il se développe de préférence en présence de l'air, mais pousse également sous le vide : contrairement à l'opinion de NOCARD, CARRÉ et BIGOTEAU (1908) ont constaté la présence d'un voile, mais très mince et très fragile dans les cultures en bouillon effectuées dans le vide. Nos observations furent comparables et nous avons constaté de plus que le bacille poussait dans un bouillon (préalablement privé d'oxygène par ébullition de 20 minutes) auquel on ajoute du sulfure de calcium ou réparti en tubes à billes de verre de Yvan Halle.

Dans d'autres expériences, nous avons déterminé dans quelles limites d'alcalinité ou d'acidité du milieu, pouvait se développer le bacille de Preisz-Nocard, et nous avons recherché qu'elle était la concentration en ions H qui était la plus favorable à sa végétation. Pour apprécier cette concentration optima, nous avons noté la rapidité de formation du voile en bouillon et son abondance, après séjour à l'étuve à 37°. Tous nos essais ont été pratiqués avec du bouillon Martin dont nous avons fait varier le pH depuis 4,6 à 9,6, en ajoutant à ce milieu soit une solution d'acide chlorhydrique au 1/20^e normale, soit une solution de soude au 1/20^e normale. Le taux en ions H est mesuré en utilisant l'échelle colorimétrique de Bruère. Plusieurs souches furent étudiées (Sultan, Bon modèle, Qui m'aime, Danube) : les résultats ont toujours été identiques.

Le pH optimum varie de 7,4 à 7,6 (voile en 15 à 18 heures). Le bacille se développe bien entre 7,2 et 8, (voile en 24 heures). A partir de 7 et au dessous, le voile se forme lentement ou mal et il n'y pas de culture au dessous de 5,3, comme le montre le tableau ci-dessous :

pH : 7, Voile très léger après 24 heures d'étuve, augmentant légèrement jusqu'au 4^{me} jour.

pH :	6, 8	{	léger voile après six jours d'étuve seulement.
	6, 6		
	6, 4		

pH : 6, 2, voile le 10^{me} jour

pH : 6 voile le 14^{me} jour

pH : 5, 8 pas de culture après 15 jours d'étuve.

Le bacille de Preisz-Nocard s'accommode mieux d'un milieu alcalin :

pH : 8, 2 { le voile ne se forme qu'après deux jours d'étuve,
8, 4 { mais devient abondant le 3^{me} jour.

pH : 8, 6 { voile léger après deux jours, mais recouvre toute
8, 8 { la surface du bouillon le 3^{me} jour.

pH : 9, , voile le 3^{me} jour.

pH : 9, 2 , voile le 5^{me} jour.

pH : 9, 4 , pas de voile après 15 jours d'étuve.

Le bacille de Preisz-Nocard peut donc se développer dans les limites d'un pH variant de 6 à 9, 2 avec pH optimum de 7, 4 à 7, 6. Il peut être rangé dans le groupe des bactéries susceptibles de supporter de larges variations de la concentration en ions H, (groupe établi par DERNBY, 1921), tout comme le bacille diphtérique, dont la zone de croissance s'étend de pH. 5, 6 à 8, 8 pour BUNKER, de 6 à 8, 4 pour DERNBY et DAVIDE, de 9, 2 à 5, 2 pour ABT et LOISEAU.

3° Cultures sur divers milieux.

Culture en bouillon peptone ordinaire ou en bouillon Martin

Après 24 heures de culture, on voit, au fond du tube ensemencé, une multitude de très petits grains blanchâtres qui ne troublent pas la limpidité du liquide et une mince pellicule apparaît à la surface du bouillon. Celle-ci s'épaissit pour former un voile chagriné, grisâtre, peu adhérent aux parois du tube mais pouvant se désagréger, par agitation un peu forte, en particules qui tombent au fond du tube. Le voile atteint son développement après 3 ou 4 jours de culture. Ces caractères ont été décrits par tous les auteurs qui ont étudié le bacille. PREISZ (1894) compare la croûte se formant à la surface du bouillon aux écailles qu'on peut faire en laissant tomber de la stéarine fondue dans de l'eau fraîche. NOCARD (1896-97) n'a pas toujours noté la formation de voile, mais plutôt un dépôt blanc, uniforme, assez épais, se collectant au fond du tube. SERÉS et GUILLAUME (1908) on fait les mêmes constatations. CARRÉ et BIGOTEAU (1908) ont enregistré les deux aspects de culture, seuls ou coexistants. Ils signalent certains échantillons dont le voile, au lieu de conserver sa teinte grisâtre, peut prendre une couleur jaunâtre assez accentuée. DASSONVILLE (1907) dit avec raison que la culture ressemble à s'y méprendre à une culture de bacille diphtérique. Nous avons pu comparer, à l'Institut Pasteur de Garches, des ballons de Fernbach, placés côte à côte dans une même étuve, contenant l'un du bacille diphtérique, l'autre du bacille de Preisz-Nocard, sans qu'il soit possible de les différencier. SIVORI (1899)

compare le voile qui peut remonter sur les parois du tube sans y adhérer à celui observé dans les cultures de bacilles tuberculeux, en bouillon glycérimé.

Toutes les souches que nous avons étudiées ont toujours donné un voile, apparaissant plus ou moins rapidement, sur bouillon Martin qui est le milieu que nous employons le plus couramment.

Ainsi que l'ont signalé SIVORI, CARRÉE, et BIGOTEAU lorsque le bacille est accoutumé à un milieu donné, par exemple, le bouillon Martin, il y pousse avec rapidité, et en général, le voile est constitué en une nuit, après une période d'acclimatement de 48 heures à 4 jours. Si l'on agite le tube de culture pour faire tomber complètement le voile, celui-ci se reforme le lendemain et cela pendant quatre jours consécutifs. Le cinquième jour, les colonies microbiennes forment un dépôt formé de fines particules au fond du tube, dépôt qui ne semble plus augmenter après 6 ou 8 jours ; parfois une fine pellicule persiste en surface. Si l'on prend soin de ne pas agiter le tube, on peut voir le voile subsister pendant plusieurs mois. Dans les très vieilles cultures (de 6 à 14 mois), un dépôt grumeleux assez épais est collecté au fond des tubes. Le milieu reste constamment limpide, et prend une teinte jaune foncé en vieillissant. Nous n'avons jamais perçu l'odeur nauséabonde signalée par DASSONVILLE et qu'URBAIN a enregistrée quelquefois (observations inédites).

En bouillon de viande non peptoné, le bacille de Preisz-Nocard pousse moins abondamment qu'en bouillon Martin, mais forme un léger voile. De même, *en eau peptonée*, milieu dans lequel sa culture n'entraîne pas de formation d'indol.

En bouillon glycérimé ou glucosé à 2 ou 3 pour 1000, il pousse avec les mêmes caractères qu'en bouillon Martin, mais prend sur le premier milieu l'aspect microscopique de coccus.

Sur bouillon Martin additionné de sérum frais de cheval ou de liquide d'ascite, il pousse en donnant un léger trouble dans les premières 24 heures, trouble qui disparaît ensuite ; les colonies se collectent au fond du tube ; la formation d'un voile est exceptionnelle, CARRÉE et SIVORI l'ont également constaté.

Rappelons que sur ces milieux, les microbes apparaissent, à l'examen microscopique plus grêles et parfois avec l'aspect cocco-bacillaire ; ils sont en général agglutinés. Il en est de même s'ils sont semencés sur *sérum liquide*, milieu dans lequel ils poussent assez bien en formant un trouble persistant.

Le bacille pousse très bien et forme un voile sur bouillon Martin auquel on ajoute du sang défibriné (cheval ou mouton). On observe le phénomène d'hémolyse, sur lequel nous reviendrons plus loin.

Culture sur Gélase.

L'aspect très caractéristique des colonies du bacille de Preisz-Nocard a été bien décrit par NOCARD (1896) : « sur gélase, le microbe se développe sous forme de petites colonies blanchâtres, opaques, arron-

dies ou crénelées sur les bords, saillantes dans la partie centrale ; au bout de quelques jours la colonie s'étale à la surface de la gélose sous forme d'une membrane mince, humide, opaque, finement plissée, non adhérente au milieu ». Les colonies, difficiles à dissocier, fuient sous le fil qui cherche à les saisir et se fragmentent (SIVORI, CARRÉ). Mademoiselle LE SOUDIER et VERGE (1924) signalent une crépitation caractéristique des colonies portées dans la flamme et une odeur nauséabonde, voire fécaloïde des cultures sur gélose ; URBAIN a fait de semblables constatations ; pour notre part, nous n'avons jamais perçue cette odeur, même sur de vieilles cultures.

L'eau de condensation des tubes de gélose n'est jamais troublée mais recouverte d'un voile léger.

Ensemencé en piqûre, dans la gélose profonde, le bacille donne une colonie se développant à la surface et des grains blanchâtres le long de la strie.

Le développement du microbe sur gélose est toujours plus lent qu'en bouillon et il faut souvent attendre 48 heures pour voir apparaître les colonies.

Pour faciliter sa végétation, sur ce milieu, certains auteurs, CARRÉ (1910), KNOWLES (1918), conseillent de lui ajouter 10 % de sérum.

Le bacille de Preisz-Nocard pousse en effet très bien et en donnant des colonies analogues à celles observées sur gélose ordinaire, sur gélose additionnée de sérum de cheval ou de liquide d'ascite. Ces liquides organiques peuvent être incorporés à la gélose fondue à 45° ou plus simplement coulés à la surface de la gélose inclinée. Lors de repiquages de souches poussant mal en bouillon Martin, il nous a suffi de les repasser sur gélose sérum pour activer leur développement.

Enfin, le bacille se développe bien sur *gélose-sang*, manifestant ses propriétés hémolytiques ainsi que nous le verrons plus loin.

Cultures sur gélose Veillon

Quand on enseme dans des tubes de gélose Veillon quelques gouttes d'une émulsion de bacilles de Preisz Nocard dans de l'eau physiologique, on obtient des colonies dans toute la profondeur du milieu et quelques colonies punctiformes en surface. Rappelons à ce propos que les colonies de bacille diphtérique se répartissent sur toute la hauteur des tubes et ne s'étalent pas en surface (MARTIN et LOISEAU). Avec le *Corynebacterium commune* on n'observe de développement que dans la partie supérieure de la gélose ; les colonies se présentent au voisinage de la surface où elles forment une culture grisâtre, étalée, envahissante. Il en est de même avec le *bacillus cutis communis* ou *Corynebacterium cutis*, (BESSON).

Si l'on pratique l'ensemencement en piqûre dans la gélose Veillon, les colonies de Bacille de Preisz-Nocard comme celles du bacille diphtérique se développent sur toute la hauteur de la strie.

Cultures sur gélatine

La plupart des auteurs estiment que le bacille de Preisz-Nocard ne pousse pas sur gélatine à la température du laboratoire (PREISZ, NOCARD, SIVORI, CHERYET BULL, 1899). Pour CARRÉ et BIGOTEAU (1908), la gélatine lui convient bien ; le bacille donne sur ce milieu un couche assez épaisse, sèche, chagrinée, mamelonnée. Pour Mademoiselle LE SOUDIER et VERGE (1924) la culture sur gélatine est plus ou moins abondante, sans liquéfaction.

Si l'on met la gélatine ensemencée à 37°, le bacille peut pousser en donnant une culture très maigre, d'après NOCARD, comme en bouillon, d'après SIVORI.

Nous n'avons jamais observé de colonies sur gélatine à 15° et très rarement sur gélatine à 37°.

Culture du sérum coagulé

NOCARD (1896) décrit ainsi les cultures : « A la surface du milieu, après 36 ou 48 heures, apparaît une petite tache arrondie, luisante, à bords nettement délimités, représentant un segment de sphère d'un grand rayon ; parfois le centre de la colonie est nettement en saillie. Peu à peu, la colonie à peine saillante à la surface du milieu, semble plonger dans l'épaisseur par d'innombrables racines dont l'assemblage forme une sorte de houppe vilieuse, hémisphérique, d'un diamètre souvent plus grand que celui de la colonie... La couleur des colonies développées sur sérum est différente, suivant qu'il s'agit de sérum de cheval ou de sérum de bœuf. Sur le sérum de cheval, les colonies sont blanches ; elles sont d'un jaune plus ou moins intense quand elles se sont développées sur sérum de vache ; l'intensité de la coloration dépasse parfois celle du plus beau staphylocoque doré ».

Le bacille isolé par CARRÉ et BIGOTEAU pousse sur sérum coagulé, en petites colonies arrondies, blanches, sans prolongement vilieux à l'intérieur. Son sérum coagulé de mouton, DESCAZEUX (1929) observe de nombreuses colonies, petites, grises, acuminées ; ces colonies sont moins nombreuses sur sérum de cheval.

Nous avons toujours ensemencé nos souches sur sérum coagulé de cheval, milieu sur lequel elles ont poussé abondamment (1) ; les colonies blanches forment des houppes vilieuses à l'intérieur du milieu. (2) Nous n'avons jamais noté de liquéfaction. MINETT (1922) a observé parfois une lente liquéfaction du milieu.

Cette absence de liquéfaction est un des meilleurs caractères permettant de différencier le bacille de Preisz-Nocard du bacille pyogène

(1) Comme sur les milieux additionnés de sérum, le bacille prend un aspect microscopique très fin ; en outre, il présente des granulations, et ne résiste pas à une action un peu prolongée de l'alcool-acétone, si on le colore par la méthode de gram.

(2) Nous avons parfois observé des houppes vilieuses semblables dans des cultures sur gélose ordinaire.

de Pöels (décrit notamment par BRIDRE (1905) et BOQUET (1911) chez les moutons algériens sous le nom du premier germe).

Sur *albumine coagulée* le bacille de Preisz-Nocard donne des colonies blanchâtres sans jamais la liquéfier. Sur ce milieu, PREISZ (1894) a observé des colonies incolores.

Culture sur pomme de terre

« Ensemencés sur pomme de terre, le pus le plus riche en microbes, la culture la plus vigoureuse ne donnent qu'une mince couche sèche pulvérulente, d'un blanc sale, festonnée sur les bords. Sur pomme de terre glycinée, la culture toujours peu abondante forme un enduit humide, incolore, où le microbe prend l'aspect d'une coccobactérie » (Nocard). SIVORI (1899) n'a jamais observé de cultures sur pomme de terre. CHERRY et BULL, (1899) par contre, en ont constaté. TRUCHE (1907) est arrivé, par un certain nombre de repiquages, à obtenir des cultures abondantes sur gélose à la pomme de terre. Le bacille isolé par SÉRÈS et GUILLAUME (1908) pousse sur ce milieu en donnant une couche gris sale à bords festonnés. La culture sur pomme de terre apparaît sous forme de petits grains irréguliers, dont la couleur tranche peu sur celle du milieu, pour certaines souches étudiées par CARRÉ et BIGOTEAU ; d'autres variétés ne poussent pas. DESCAZEUX (1929) n'a jamais observé de cultures, sauf un léger voile sur l'eau de condensation. Les souches isolées par Mademoiselle LE SONDIER et VERGE (1924) donnent des cultures peu abondantes, jaunâtres.

Le développement du bacille de Preisz-Nocard est donc inconstant sur pomme de terre. Nous avons très rarement obtenu des cultures en ensemencant nos diverses souches sur ce milieu, glyciné ou non.

Nous n'avons jamais observé de cultures sur carotte.

Culture sur le lait

Le lait d'après NOCARD (1896) est un milieu peu favorable ; le microbe s'y cultive cependant, mais lentement, toujours en amas de coco-bactéries ; il ne provoque pas, même à la longue, la coagulation du lait. Le bacille isolé par SIVORI (1899), pousse sur le lait comme en bouillon et les grains prennent une couleur jaune, qui lorsque le développement s'opère en surface, se communique au lait. Pour CARRÉ et BIGOTEAU, le lait est un mauvais milieu. La gélose arrosée de quelques gouttes de lait stérilisé et la gélose au lait conviennent très bien au bacille étudié par DESCAZEUX.

Les souches que nous avons ensemencées dans le lait se sont peu développées, quoique conservant toute leur vitalité, et sans jamais coaguler le milieu.

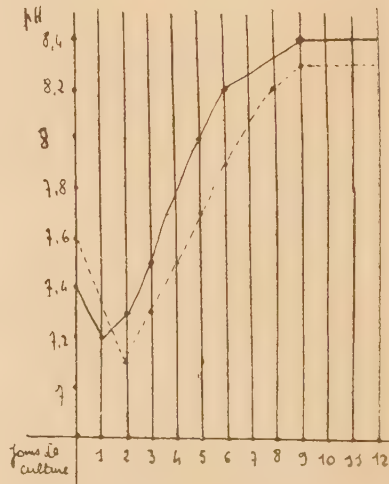
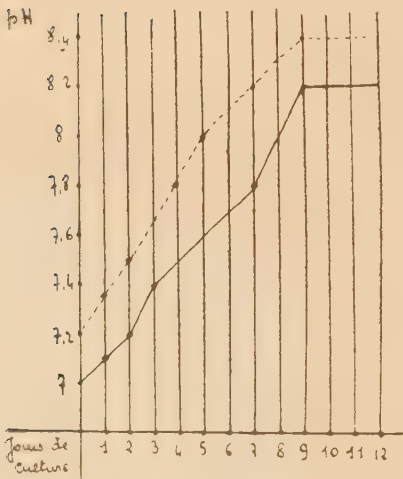
Culture sur bile

Nous n'avons jamais pu obtenir de cultures sur bile de bœuf liquide, stérilisée.

CHAPITRE IV

1^o — Réaction du milieu.

D'après NOCARD (1896) et PREISZ (1894), la culture du bacille de PREISZ-NOCARD, même abondante, ne modifie pas la réaction du milieu quel qu'il soit ; les bouillons même sucrés ou glycélinés restent neutres ou légèrement alcalins. Pour SIVORI (1899), la réaction du liquide de culture, au tournesol, ne change pas. CHERRY et BULL (1899) signalent une réaction alcaline du milieu après culture du bacille. DASSONVILLE (1907) note la forte alcalinité des vieilles cultures qu'il filtre pour obtenir la toxine.



Nous avons ensemencé le bacille de Preisz-Nocard dans du bouillon Martin de pH variant de 7 à 7,6, puis chaque jour suivant, nous avons mesuré le pH du milieu ensemencé en utilisant l'échelle colorimétrique de BRÜERE. Nous figurons dans les tableaux précédents les résultats obtenus.

Ces graphiques nous montrent que les bouillons neutres ou légèrement alcalins (pH 7 et 7,2) s'alcalinisent lentement pour atteindre un pH de 8,2, 8,4 le 9 ou 10^e jour. Au contraire, des bouillons plus alcalins (7,4 et 7,6) s'acidifient légèrement pendant 1 ou 2 jours puis redeviennent rapidement alcalins les jours suivants.

Ces variations de la réaction du milieu sont presque analogues à celles étudiées par ABT et LOISEAU avec le bacille diphtérique. La phase d'acidification pendant les premiers jours de culture, avait d'ailleurs été constatée par ROUX et YERSIN lors de leurs études sur la toxine diphtérique.

2°. — Propriétés biochimiques

Production d'indol. — Rappelons que le bacille de Preisz-Nocard pousse bien en eau peptonée mais sans produire de l'indol même après 8, 10 jours de culture. DASSONVILLE, puis URBAIN ont noté des traces d'indol dans de vieilles cultures.

Actions réductrices. — Le bacille de Preisz-Nocard ne réduit pas le rouge neutre. Ensemencé sur gélose à l'acétate de plomb, il ne produit pas d'hydrogène sulfuré.

Lait et petit lait tournesolé. — Le bacille de Preisz-Nocard pousse bien sur ces deux milieux sans entraîner aucun virage de leur coloration.

Action sur les sucres. — Cette action a été étudiée par de nombreux auteurs dont nous rappellerons les constatations :

SIVORI (1899-1912) ne signale pas de fermentation sur les milieux lactosés, glucosés ou saccharosés, ensemencés avec le bacille de Preisz-Nocard.

Pour MAGNUSSON (1929), seules les géloses tournesolées additionnées de glucose, galactose et lévulose sont virées.

Pour MINETT (1922), le bacille de Preisz-Nocard vire les géloses tournesolées additionnées de glucose, maltose, dextrine, galactose et glycérine, mais ne vire pas celles additionnées de lactose, saccharose, mannite, inuline et salicène.

D'après EBERSON, le bacille de Preisz-Nocard n'a pas d'action sur la glycérine, et c'est un des caractères qui le différencie de *Bacillus flavidus* ; HALL et STONE (1916) confirment ces faits et montrent que le bacille de Preisz-Nocard fermente le glucose et le maltose, et ne fermente pas la glycérine, le saccharose, la mannite et la dextrine (ce dernier sucre étant fermenté comme la glycérine par le bacille diphtérique).

Le bacille d'Hofman ou *Corynebacterium commune* n'attaque aucun sucre. Le *Corynebacterium Cutis* (NICOLLE) attaque le glucose, le maltose et le saccharose.

Mademoiselle LE SOUDIER et VERGE (1924) ont étudié l'action sur les sucres de 4 souches de bacilles de Preisz-Nocard : une souche fournie par l'Institut Pasteur, une souche fournie par CARRÉ et deux souches qu'ils ont isolées chez la poule. Nous reproduisons le tableau qu'ils ont établi.

	Glucose	Lévulose	Dextrine	Maltose	Galactose	Lactose	Inuline	Glycérine	Mannite	Saccharose	Dulcité
Souche Pasteur	+	+	0	+	+	0	0	0	0	+	0
Souche Carré	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0
D II (poule)	+	+	0	+	+	0	0	0	0	+	0
D V (poule)	+	+	0	+	+	0	0	0	0	+	0

Le signe + indique la fermentation, le signe 0 l'absence de fermentation.

CARPANO (1931) a étudié l'action sur les sucres de quatre souches de bacilles de Preisz-Nocard, isolées en Egypte. Toutes attaquent le glucose, le maltose, la galactose, et la dextrine ; trois sur quatre attaquent le saccharose, une seule fermente le lactose et une seule fermente la mannite. Leur action sur le lévulose est problématique.

Nous avons étudié l'action de diverses souches de bacilles de Preisz-Nocard d'origine différente, non seulement en les ensemençant sur géloses tournesolées sucrées, mais aussi en eau peptonée sodique et sucrée afin de voir s'il y avait production de gaz.

Pour cela, nous avons réparti environ 4 cc. de la solution suivante par tube à essai :

Peptone Defresne.....	25 gr.
Glucose ou autre sucre.....	10 gr.
Soude normale.....	20 cc.
Eau distillée.....	1000 cc.

Des petits tubes faisant fonctions d'éprouvettes sont également remplis avec ce liquide, puis retournés et introduits dans les tubes à essai. Le milieu estensemencé après stérilisation (15 minutes à 110°).

Nous avons fait les constatations suivantes :

glucose : fermentation sans aucune production de gaz.

galactose : fermentation inconstante sans production de gaz.

maltose : fermentation sans production de gaz.

saccharose : fermentation irrégulière sans production de gaz.

lévulose : fermentation sans production de gaz.

glycérine : fermentation avec la plupart des souches (pas de gaz)
quelques souches sont restées inactives.

Nous n'avons jamais noté de fermentation des sucres suivants :
lactose, dextrine, mannite, arabinose, xylose, inuline, dulcité.

En définitive, nous pouvons conclure que le bacille de Preisz-Nocard fermente toujours le glucose, le maltose et le lévulose. Son action sur le galactose, le saccharose et la glycérine est variable. Aucun autre sucre n'est attaqué.

CHAPITRE V

Résistance et Vitalité.

1°. — Action de la chaleur

Le bacille de Preisz-Nocard est peu résistant à la chaleur. Il est tué après 1 heure à 58°, et moins d'un quart d'heure à 65° (NOCARD, 1896), après 20 minutes à 60° (SIVORI, 1899-1912), après 6 minutes à 70° (BESSON), après 5 minutes à 80° (CARPANO, 1931)..

Nous avons recherché les températures mortelles pour le bacille de Preisz-Nocard, dans les limites de 50 à 100°. Pour cela, nous avons rempli de petites ampoules en verre mince, contenant environ 0 cc,5, avec une culture du bacille sur bouillon, datant de 24 heures. Ces ampoules étaient plongées dans un bain d'huile pendant des temps variables et à diverses températures. Leur contenu est ensuite l'ensemencé sur bouillon et gélose. Nous avons pu ainsi noter les températures qui tuent le bacille et le temps nécessaire pour obtenir une action mortelle. Ces indications sont mentionnées dans le tableau ci-dessous :

TEMPÉRATURES	TEMPS MORTEL
50°	60 minutes
65°	50 id.
60°	40 id.
65°	5 id.
70°	4 id.
75°	3 id.
80°	3 id.
85°	2 id.
90°	2 id.
95°	2 id.
100°	1 id.

2° — Action du froid

CAUCHEMEZ et URBAIN (1926) ont pu constater que le bacille de Preisz-Nocard conserve sa vitalité dans les ganglions prélevés sur des moutons congelés de -15° à -20° depuis quatre mois et plus. (Il conserve d'ailleurs sa virulence et sa toxicité).

Nous avons maintenu pendant plusieurs semaines des cultures du bacille en bouillon, à la glacière, à des températures variant de $+4^{\circ}$ à -6° . Ces cultures ont toujours pu être réensemencées avec succès.

3° — Action du vieillissement

NOCARD (1896) signale que les cultures de bacilles de Preisz-Nocard conservent longtemps leur virulence et leur végétabilité, même à la température de la chambre ; vieilles de trois à quatre mois, elles poussent avec vigueur sur les différents milieux, mais il est rare d'obtenir de nouvelles cultures en employant des cultures datant de plus de six mois. CARRÉ et BIGOTEAU (1908) ont également constaté que les cultures conservées plusieurs mois à l'obscurité et à la température du laboratoire permettent encore des repiquages positifs. MINETT (1922) a pu réensemencer une culture sur gélose-sérum vieille de 366 jours. SEDDON, BELSCHNER, ROSE et BLUMER (1929) signalent que le pus desséché provenant d'adénite caséuse du mouton, conserve dans la laine sa virulence pendant un certain temps.

FONTAINE et MESPOULET (1913) ont fait les mêmes constatations avec le pus concrété des pustules de dermite contagieuse.

CARPANO (1931) a conservé pendant 8 mois des cultures vivantes en ampoules scellées.

Nous avons étudié la conservation de la vitalité, du bacille de Preisz-Nocard, soit dans le pus, (en collaboration avec A. URBAIN et M. VALLÉE, 1930), soit dans les cultures en bouillon Martin.

A. — Vitalité dans le pus

Nos expériences ont porté sur 9 pus prélevés aseptiquement dans des abcès de lymphangite ulcéreuse et conservés au Laboratoire dans des flacons à sérum mêmes, où ils avaient été recueillis. Ces pus avaient été prélevés aux dates ci-après :

— Pus « Qui m'aime »	le 3 Octobre 1929,
— pus « Artaban »	le 4 Octobre 1929,
— pus « Charbon-Ardent »	le 8 Octobre 1929,
— « Médoc »	le 19 Octobre 1929,
— pus « Amoureux »	le 5 Novembre 1929,
— pus « Roi de Pique »	le 6 Novembre 1929,
— pus « Varella »	le 9 mars 1930,
— pus « Danube »	le 3 Mai 1930.
	(2 échantillons)
— Pus « Loulou »	le 15 Mai 1930.

Tous ces pusensemencés le 16 Mai 1930 sur bouillon Martin et sur gélose ont fourni des cultures de bacilles de Preisz-Nocard, qui tous se sont montrés virulents et toxiques.

Les flacons contenant 4 de ces pus furent exposés à la lumière, ceux contenant les 5 autres échantillons furent conservés à l'obscurité.

D'autre part, quelques gouttes de ces pus furent déposées au fond des tubes à essais stérilisés, dont les uns (7) ont été placés à la lumière, les autres (4) à l'obscurité.

Chaque mois, nous avonsensemencé une goutte de pus de chacun des flacons, en bouillon Martin et sur gélose ; d'autre part, un tube à essai de chacune des séries recevait 10 cc. de bouillon Martin et était porté à l'étuve à 37°.

Les résultats que nous avons obtenus, sont les suivants :

1. — *Pus des flacons à sérum de la série laissée à la lumière*

« Artaban ».....	culture après	11 mois.
« Qui m'aime ».....	— —	9 mois.
« Danube et Loulou ».....	— —	6 mois.

2. — *Pus des flacons à sérum de la série laissée à l'obscurité.*

« Varella ».....	culture après	6 mois.
« Amoureux ».....	— —	7 mois.
« Roi de Pique ».....	— —	12 mois.
« Médoc » et « Charbon-Ardent »	— —	13 mois.
« Danube » (2 ^{me} échantillon)...	— —	16 mois.

3. — *Pus mis à dessécher dans les tubes à essais, exposés à la lumière.*

Les 7 échantillons (Qui m'aime, Artaban, Charbon-Ardent, Médoc, Roi de Pique, Varella, Danube) ont été stérilisés au bout d'un mois.

4. — *Pus mis à dessécher dans les tubes à essais, conservés à l'obscurité.*

« Danube ».....	culture après	7 mois.
« Artaban ».....	— —	8 mois.
« Charbon-Ardent ».....	— —	9 mois
« Qui m'aime ».....	— —	11 m. et demi.

Ce dernier délai semble d'ailleurs pouvoir être dépassé car, faute de matériel, nous n'avons pu poursuivre cette étude.

Cette longue durée de la vitalité du bacille de Preisz-Nocard, dans le pus desséché provenant d'abcès de lymphangite ulcéreuse, explique la persistance de l'affection dans certains effectifs et elle peut avoir un rôle important dans la prophylaxie des maladies qui sont sous la dépendance de ce germe.

Nous verrons d'ailleurs, dans un paragraphe suivant, que le bacille peut se conserver dans le sol et les litières.

B. — Vitalité des cultures.

Toutes nos souches de bacilles de Preisz-Nocard sont conservées en bouillon Martin, au Laboratoire. Tous les mois, nous effectuons des repiquages en partant des souches les plus anciennes, qui sont éliminées au fur et à mesure que nous constatons leur stérilité.

Dans les cas de très vieilles cultures (plus d'un an) le bouillon étant évaporé, il ne reste plus au fond des tubes qu'un culot microbien desséché. Nous ajoutons stérilement du bouillon dans ces tubes et fréquemment nous assistons à une nouvelle végétation microbienne.

Toutes les souches peuvent être repiquées avec succès après un minimum de trois mois. La plupart, conservent leur vitalité pendant 9 à 16 mois (durée souvent dépassée).

Voici pour plusieurs de nos souches les durées maxima de vitalité que nous avons observées :

Varella.....	16 mois	Mignonne.....	17 mois
Uranus.....	17 mois	Sultan.....	17 mois
Vol au vent.....	16 mois	Loulou.....	16 mois
Encarte.....	17 mois	Qui m'aime.....	13 mois $\frac{1}{2}$
Médoc.....	11 mois $\frac{1}{2}$	Grenoble.....	16 mois
Artisan.....	9 mois	Veinard.....	11 mois $\frac{1}{2}$
Danube.....	17 mois	Cobaye I.....	13 mois
Bon modèle.....	15 mois	Cobaye II.....	12 mois
Charbon Ardent.....	15 mois	Cobaye VIII.....	15 mois
Qui-vive.....	16 mois	Cobaye Angora.....	15 mois
Roi de Pique.....	9 mois	Cobaye X.....	11 mois

4° Action des antiseptiques

Nous avons étudié l'action de divers antiseptiques sur le bacille de Preisz-Nocard, en choisissant de préférence ceux préconisés par divers auteurs pour lutter contre la lymphangite ulcéreuse, notamment : bleu de méthylène (CHATELAIN, 1916) ; alcool picriqué (VAN SACEGHEM, 1918) ; sulfate de cuivre (MAILLAND, 1930, BOQUET, 1920) ; biiodure de mercure et iodure de potassium (TASKIN, 1919 TEPPAZ ; 1928) ; Novarsenobenzol (DARROU, 1921) etc... antiseptiques recommandés soit en applications locales sur les ulcères, soit en injections intraveineuses ou intramusculaires chez le cheval lymphangiteux.

FONTAINE et MESPOULET (1913) ont constaté que le sublimé en solution au 1/1000^e détruisait le bacille de Preisz-Nocard. BRIDRE (1921), étudiant le pouvoir antiseptique (antigénétique) de quelques couleurs d'aniline, a fait les constatations suivantes :

Le bacille de Preisz-Nocard ne pousse pas dans les dilutions de bleu de Méthylène à 1 pour 30.000,

Violet benzylé à 1 pour 1.000.000,

Violet hexaméthyle à 1 pour 4.000.000,

Vert brillant à 1 pour 1.000.000.

BRIDRÉ faisait les dilutions de couleur dans le milieu de culture même (bouillon de bœuf, peptone Chapoteaut), en partant d'une solution colorante mère à 1 pour 1.000 dans l'eau distillée.

En bouillon Martin, et sur milieu additionné de sérum, le pouvoir antiseptique s'est montré moins actif, (par ex., en bouillon Martin, le bacille de Preisz-Nocard pousse en trois jours, dans une solution de violet hexaméthyle à 1 pour 2.000.000).

CARNE (1932) a recherché la valeur de divers antiseptiques pour désinfecter les tondeuses souillées par du pus à B. de Preisz-Nocard et préconise le crésyl en solution à 50 %.

Nous avons recherché pour chacun des antiseptiques étudiés, la *dose empêchante* et la *dose stérilisante* ; dans le premier cas l'antiseptique est dilué dans le bouillon Martin (réparti à raison de 5 ou 10 cc. par tube) avant l'ensemencement, puis le milieu est porté à l'étuve. Dans le second cas, l'antiseptique est ajouté à une culture de 24 heures. Après une journée de contact, le milieu est réensemencé sur bouillon Martin et gélose

Nous donnons dans le tableau ci-dessous le résultat de nos recherches, notant dans la colonne « *Observations* » les doses retardant les cultures et les antiseptiques donnant parfois un précipité même aux dilutions employées :

ANTISEPTIQUES	DOSE EMPÊCHANTE	DOSE STÉRILISANTE	OBSERVATIONS
Gonacrine	1 400.000	1 60.000	
Bleu de Méthylène.	1 200.000	1 8.000	
Violet de Gentiane..	1 150.000	1 80.000	
Biodure de Mercure	1 160.000	1 80.000	dilué (1 partie) en présence d'iodure de potassium (2 parties).
Oxycyanure de Mercure.....	1 80.000	1 30.000	
Cristal Violet.....	1 80.000	1 25.000	
Sublimé.....	1 40.000	1 30.000	
Novarsénobenzol...	1 30.000	1 1.000	culture retardée avec 1 40.000

ANTISEPTIQUES	DOSE EMPÊCHANTE	DOSE STÉRI- LISANTE	OBSERVATIONS
Vert de Méthyle....	$\frac{1}{10.000}$	$\frac{1}{4.000}$	
Chlorure de Zinc...	$\frac{1}{9.000}$	$\frac{1}{400}$	précipité, retard de la culture (10 jours) à 1/10.000.
Nitrate d'argent ..	$\frac{1}{9.000}$	$\frac{1}{8.000}$	
Acétate de cuivre...	$\frac{1}{8.000}$	$\frac{1}{900}$	Retard de la culture (15 jours) à 1/9.000.
Formiate de Quinine	$\frac{1}{7.000}$	$\frac{1}{900}$	
Crésyl.....	$\frac{1}{7.000}$	$\frac{1}{1000}$	Retard de la culture (8 j. à 1/8.000.
Lysol.....	$\frac{1}{6.000}$	$\frac{1}{900}$	Retard de la culture (6 jours) à $\frac{1}{7.000}$ & $\frac{1}{8.000}$
Sulfate de Zinc.....	$\frac{1}{6.000}$	$\frac{1}{500}$	Retard de la culture à 1/9.000.
Sulfate de cuivre...	$\frac{1}{3.000}$	$\frac{1}{250}$	
Formol.....	$\frac{1}{3.000}$	$\frac{1}{1000}$	
Gaïacol.....	$\frac{1}{2.000}$	$\frac{1}{100}$	
Acide phénique cris- talisé.....	$\frac{1}{900}$	$\frac{1}{300}$	
Thymol.....	$\frac{1}{800}$	$\frac{1}{500}$	
Acide salicylique...	$\frac{1}{750}$	$\frac{1}{100}$	
Sulfate de fer.....	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{40}$	Précipité. Retard de la culture à $\frac{1}{200}$
Acide picrique.....	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	
Acide borique	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{10}$	

ANTISEPTIQUES	DOSE ENPÊCHANTE	DOSE STÉRI- LISANTE	OBSERVATIONS
Teinture d'iode offi- cinale au 1/15 ^e ...	1 70	1 50	
Permanganate de potassium.	1 50	1 50	
Eau de javel.....	1 40	1 30	Retard de la culture à partir de $\frac{1}{80}$
Moranyl } Stovarsol }	1 20	pas de pou- voir stérili- sant ou 1/10	
Chlorure de Sodium	1 15	pas de pou- voir stérili- sant au 1/5.	
Alcool absolu.....	1 15	1 5	
Solution de Lugol..	1 10	1 5	Retard de la culture à 1/20.
Iodure de potassium.	1 10	1 2	id.
Solution de Gram...	3 10	1 2	
Eau oxygénée.....	pouvoir nul	pouvoir nul	

L'examen de ce tableau nous montre que plusieurs produits d'usage courant méritent d'être retenus dans la chimiothérapie des affections à B. de Preisz-Nocard : la gonacrine, le bleu de méthylène, le biiodure de mercure, l'oxycyanure de mercure, le sublimé et le novarsénobenzol.

Si 3 d'entre eux, (bleu de méthylène, biiodure de mercure, et novarsénobenzol) ont été utilisés avec succès par voie intraveineuse pour lutter contre la lymphangite ulcéreuse du cheval, la gonacrine n'a jamais été employée. Il semble qu'il y ait là une indication intéressante et il serait souhaitable que des essais de ce produit « in vivo » viennent confirmer l'action que nous avons notée « in vitro ».

Au point de vue désinfection, soulignons la nécessité d'employer des solutions crésylées *peu diluées* si l'on veut obtenir un résultat efficace.

5°. — Vitalité dans le milieu extérieur

CARRÉ et BIGOTEAU (1908) considèrent, à juste titre, le bacille de Preisz-Nocard comme un microbe vivant à l'état saprophytique dans le milieu extérieur, (la même opinion est exprimée par CADÉAC, 1911), et ils ont pu constater que ce germe poussait sinon abondamment, du moins de façon très nette, dans le purin de mouton.

LIGNIÈRES (1929) a mis le bacille en évidence dans la terre du sol des bergeries, par inoculation directe d'une émulsion de cette terre au cobaye.

CARNE (1933) a confirmé que le bacille de Preisz-Nocard est susceptible de croître dans les matières fécales du mouton à la condition que ces animaux consomment des légumineuses, (luzerne verte ou sèche). Dans les matières fécales stérilisées, le bacille peut vivre, à la condition d'être à l'abri de la lumière, pendant plus d'un an. Son développement est gêné si les matières fécales contiennent d'autres germes, tels que *B. Coli* ou *staphylococcus aureus*.

Récemment (juin 1933), BULL et DICKINSON ont pu isoler, avec une certaine facilité le bacille de Preisz-Nocard du sol où étaient parqués des moutons appartenant à une propriété où régnait à l'état endémique une épidémie d'adénite caséuse. Ils admettent que ce microbe peut croître dans le sol riche en matières végétales, au cours de la saison pluvieuse. En effet, au cours de l'été, lorsque le sol est très sec, tous leurs essais pour mettre en évidence ce bacille sont restés négatifs.

Nous avons ensemencé plusieurs souches de B. de Preisz-Nocard dans une dilution stérilisée de crottins de cheval, en eau physiologique. Le bacille se développe lentement sur ce milieu et il faut attendre une semaine de séjour à l'étuve pour que la dilution de crottins ensemencée sur gélose fournisse des colonies en assez grand nombre.

CHAPITRE VI

Hémolysine du bacille de Preisz-Nocard

Le bacille de Preisz-Nocard sécrète une hémolysine plus ou moins active, que nous avons cherché à mettre en évidence. Les phénomènes d'anémie observés chez les moutons atteints de lymphadénie caséuse sont attribués par plusieurs auteurs à l'hémolysine bactérienne agissant sur les globules rouges des animaux infectés. BOQUET (1912), en particulier, a attiré l'attention sur ce point, mais nous savons que le bacille qu'il a étudié sous le nom de bacille de Preisz-Nocard et dont il a constaté le pouvoir hémolytique élevé, est un bacille de Poëls. ROBINSON (1928-29) a réussi à mettre en évidence l'action hémolytique du bacille de Preisz-Nocard chez le mouton, reproduisant chez cet animal, un ictère prononcé en lui injectant dans la veine une culture de ce germe.

In vitro, sur les milieux au sang, HALL et STONE (1916) ont constaté le phénomène d'hémolyse que MAGNUSSON (1929), par contre, n'a jamais noté. Mademoiselle LE SOUDIER et VERGE (1924) signalent sur gélose au sang une hémolyse plus ou moins intense.

Pour mettre en évidence cette hémolysine, nous avons utilisé soit des milieux solides, soit des milieux liquides, (ces derniers nous permettant un titrage).

I°. — Milieux solides

Nous avons préparé de la gélose au sang de la manière suivante :

La gélose nutritive ordinaire est liquéfiée au bain-marie à l'ébullition, puis refroidie à 45° ; on y incorpore intimement 1 cc. de sang défibriné, frais, de cheval pour 8 à 10 cc. de gélose, et sans laisser refroidir, on coule en boîte de Pétri, en couche mince et uniforme, et aseptiquement. Lorsque le milieu est complètement solidifié par refroidissement, on l'ensemence à l'ose droite avec une parcelle de voile prélevé sur une culture en bouillon de B. de Preisz-Nocard ; on dessine avec l'ose, à la surface de la gélose, un quadrillage aussi régulier que possible. Après 24 ou 36 heures d'étuve, les colonies microbiennes sont en général, entourées d'un petit halo décoloré se détachant en clair sur le fond rouge du milieu. Pour certaines souches, ces zo-

nes de décoloration ne sont visibles qu'après 48 heures d'étuve. Notons enfin, que des souches isolées depuis longtemps et ayant subi plusieurs passages en bouillon n'ont aucun pouvoir hémolytique.

II°. — Milieux liquides

Pour rechercher l'hémolysine en milieux liquides, nous avons utilisé deux techniques : dans la première, le sang défibriné est incorporé au bouillon Martin avant l'ensemencement ; dans la seconde, l'action de l'hémolysine, développée dans une culture en bouillon Martin, est recherchée sur des globules lavés et dilués de diverses espèces animales (cobaye, cheval, mouton).

1^{re} technique

Dans trois tubes contenant environ 8 à 10 cc. de bouillon Martin, nous ajoutons respectivement II gouttes, II gouttes et V gouttes de sang défibriné et stérile de cheval. Le premier sert de témoin, les deux autres sont ensemencés avec une souche de B. de Preisz-Nocard. Les trois tubes sont portés à l'étuve à 37° et examinés après 12, 24 et 36 heures.

Voici les résultats que nous avons obtenus avec cinq souches :

TUBE TÉMOIN	MÉDOC		QUI M'AIME		ROI DE PIQUE		URANUS		DANUBE	
	II	V	II	V	II	V	II	V	II	V
+ 11 g. de sang										
Après 12 h. d'étuve	+	+	+	++	+	++	0	0	+	+
Après 24 h. d'étuve ...	+	+	+	++	+	++	+	+	+	+
Après 36 h d'étude	+	+	+	++	+	++	+	+	+	++

Le signe 0 correspond à l'absence d'hémolyse : le bouillon reste clair et un culot de globules est déposé au fond du tube.

Le signe ± correspond à une hémolyse incomplète : petit culot globulaire ; la moitié inférieure du tube est colorée en rouge.

Le signe + correspond à une hémolyse complète : pas de culot globulaire, légère teinte bordeaux dans tout le milieu.

Dans les tubes correspondant au signe ++, le milieu présente une teinte rouge foncé dégradée de bas en haut sur les 2/3 de sa hauteur ; le bouillon est rosé au-dessus ; il n'y a pas de culot globulaire.

Donc, sur cinq souches étudiées, deux se sont montrées très hémolytiques, deux ont une action hémolytique plus lente, une est peu hémolytique.

2^{me} Technique

Le titrage de l'hémolysine se fait dans une culture en milieu liquide (bouillon Martin, bouillon-sérum, bouillon glucosé) de 24 heures, débarrassée de ses germes soit par centrifugation à grande vitesse (1/2 heure à 4 — 5.000 tours-minute), soit par filtration sur bougie Chamberland ou sur triple épaisseur de papier Chardin. (Nous avons également utilisé des cultures non filtrées à titre de comparaison).

Dans une série de tubes à hémolyse stériles, on dépose une quantité fixe : 1 cc. d'une émulsion à 5 % en eau physiologique d'hématies lavées (mouton, cheval ou cobaye) puis des quantités décroissantes de culture centrifugée ou filtrée : 1 cc, 1/2 cc, 1/4 cc, 1/10 cc. Un tube reste comme témoin et ne reçoit pas de culture. Tous les tubes sont complétés à 2 cc. avec de l'eau physiologique ou du bouillon. Ils sont portés à l'étuve puis examinés à différentes heures.

Les résultats constatés dépendent de nombreux facteurs :

a) *Hématies de diverses espèces animales.* — Pour une même souche hémolytique, les globules rouges de mouton se montrent plus résistants que ceux du cheval ou du cobaye (hémolyse moins rapide).

b) *Nature du milieu de culture.* — L'addition de glucose (2 ou 3 p. 1.000) au bouillon Martin, ne modifie pas l'action hémolytique de la souche ensemencée sur ce milieu ; par contre, l'addition de sérum chauffé de cheval, retarde de plusieurs heures l'action hémolytique.

c) *Age des cultures. Repiquages.* — L'action hémolytique des cultures de 18 à 24 heures est plus nette que celle des cultures de 48 heures. Nous n'avons jamais constaté le phénomène d'hémolyse avec des cultures de plus de 48 heures : 4 ou 5 jours, 7, 10 ou 15 jours, 1 mois. Une souche est d'autant plus hémolytique qu'elle est récemment isolée. Son action hémolytique est atténuée après deux ou trois repiquages en bouillon Martin, mais est récupérée après passage par le cobaye mâle (voie péritonéale).

d) *Action du chauffage.* — Le pouvoir hémolytique est détruit après chauffage du milieu, à 55°, pendant une demi-heure. D'ailleurs GUYONNET (d'après M. NICOLLE et BOQUET) classe le bacille de Preisz-Nocard, comme le bacille diphtérique, dans le groupe des germes à hémolysines thermolabiles.

e) *Nature des souches.* — Les constatations suivantes ont été faites pour des souches récemment isolées ou repassées par le cobaye, ensemencées sur bouillon Martin, filtrées ou centrifugées après 24 heures d'étuve, et vis-à-vis d'hématies lavées de cheval.

Sur 16 souches étudiées :

— 6 se sont montrées hémolytiques au taux de 1/4 et 1/10 cc, après séjour à l'étuve variant de six à douze heures.

— 3 sont hémolytiques au taux de 1/2 cc. après douze à dix huit heures d'étuve.

— 4 sont hémolytiques au taux de 1 cc., après 6 h. d'étuve.

— 3 sont hémolytiques au taux de 1 cc., après 12 heures d'étuve.

Dans toutes nos expériences, les tubes témoins n'ont jamais été hémolysés. Aucune souche, même au premier ensemencement après isolement, n'a manifesté de pouvoir hémolytique à un taux inférieur à 1/10 cc.

Nous avons répété les mêmes essais avec des cultures de 24 heures, en bouillon Martin, mais non centrifugées. Les résultats constatés sont superposables aux précédents, mais le phénomène d'hémolyse a été observé dans des temps beaucoup plus courts, de 2 à 6 heures au lieu de 6 à 18 h.

Conclusions

Le bacille de Preisz-Nocard d'origine équine sécrète une hémolysine peu active, thermolabile, qui n'est mise en évidence que dans des cultures jeunes.

Comme l'a fait remarquer récemment M. GOLDIE à propos des caractères hémolytiques des cultures de bacilles diphtériques « il semble que le même principe est responsable de l'apparition de l'hémolyse dans les cultures et dans leurs filtrats... la toxine, se formant à l'état concentré dans les cultures au voisinage des microbes vivants, réussit à atteindre les globules avant sa diffusion dans le milieu ».

Antihémolysines sériques

Au mélange 1 cc. globules lavés dilués à 5 % + 1 cc. de culture ou de filtrat de culture, nous avons ajouté des doses variables de 1/10 à 1 cc. de sérum frais ou chauffé de cheval normal. L'action hémolytique n'a jamais été modifiée, pas plus d'ailleurs qu'après addition de sérum de cheval atteint de lymphangite ulcéreuse, sérum jouissant de propriétés antitoxiques, comme nous le verrons plus loin.

Hétéro et isolysines sériques

FINZI (1910) a examiné du sérum de moutons infectés du bacille de Preisz-Nocard,

Le sérum de trois sujets hémolysait les globules de mouton ; dans cinq cas, le sérum avait une action hémolytique sur les globules de cheval et dans deux cas sur ceux du bœuf.

Nous n'avons jamais constaté d'action hémolytique sur les globules de mouton ou de cheval, avec plusieurs sérums de chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse, même aux doses de 5 cc. de sérum pour 1 cc. de globules lavés.

CHAPITRE VII

A) Action pathogène naturelle. Voies d'introduction

Nous rappellerons sommairement les caractères de l'action pathogène naturelle du bacille de Preisz-Nocard, chez les diverses espèces animales, en insistant plutôt sur ses voies d'introduction dans l'organisme.

I. — Cheval

1° *Dermite pustuleuse*

Chez cet animal, le bacille est l'agent de la *dermite pustuleuse* décrite pour la première fois par DICKERHOFF et GRAWITZ (1885) sous le nom de « *variole anglaise* » encore dénommée « *acné contagieuse du cheval* ». Cette affection « se manifeste en général, par l'éruption, sur l'emplacement de la selle, d'un ou plusieurs boutons arrondis ou ovaires, du volume d'un pois à celui d'une noix ; ces boutons exsudent une sérosité citrine agglutinant les poils en petites houppes. Après un ou deux jours, la pustule s'ouvre et donne issue à du pus qui se concrète en croûtes jaunâtres et adhérentes (pus dont l'examen bactériologique permet de mettre en évidence le bacille de Preisz-Nocard). Dans de nombreux cas, des éruptions secondaires évoluent, gagnent peu à peu les régions du dos et des côtes, et, lorsqu'un traitement actif n'est pas appliqué, la suppuration s'établit dans le derme ; les lymphatiques participent à l'infection et s'engorgent. » (1)

Signalons à titre documentaire que VAN SACEGHEM, en 1916, étudiant une dermite ulcéreuse chez le mulot au Congo Belge n'a pas trouvé dans les lésions de bacille de Preisz-Nocard, mais des cocci Gram positif, en chainettes.

FONTAINE et MESPOULET (1913) étudiant la dermite pustuleuse, concluent de leurs observations que le frottement cutané semble être la condition la plus favorable à l'inoculation du germe (au niveau des surfaces de frottement des selles, harnais, surfaits.)

(1) I. M. du 6 novembre 1912, B. O. vol. n° 84, page 129.

2° *Lymphangite ulcéreuse*

Les symptômes de la lymphangite ulcéreuse ont été magistralement décrits par NOCARD, dès 1897 ; nous les résumerons brièvement :

1° — Apparition d'engorgements, plus ou moins importants et en général, très douloureux aux extrémités distales des membres ; fonte purulente rapide.

2° — Développement d'ulcères, à bords épaissis, taillés à l'emporte-pièce, laissant écouler un pus, d'abord filant et épais, qui devient peu à peu fluide, huileux, enfin sanguinolent ; cicatrisation lente.

3° — Formation (surtout au début de la maladie) de cordes lymphatiques, peu sensibles, avec hypertrophie des ganglions ; l'abcédation de ces derniers est exceptionnelle.

Les localisations sur les membres postérieurs sont de beaucoup les plus fréquentes : WATSON, (1917), FAYET (1917) et MAILLAND (1930).

Des formes atypiques, ont été signalées chez le cheval par divers auteurs : WATSON a observé l'apparition de un ou plusieurs abcès dans les régions pré-curales, pré-scapulaires ou pré-pectorales, d'abcès plus volumineux du cou, du dos et des reins, enfin d'abcès au voisinage des reins ou dans les poumons. MAILLAND cite également trois observations de lésions atypiques, d'apparence banale et bénignes, mais dangereuses en réalité.

« Souvent l'affection a une évolution chronique, insidieuse, mais possède peu de propension en général à se diffuser dans les parenchymes (pas d'adénites). » (1)

NOCARD a vu la mort survenir dans trois cas, après quelques semaines de suppurations lymphatiques continues. Celles-ci s'étaient étendues aux troncs lymphatiques pré-pelviens et aux reins. Les reins étaient farcis d'abcès de toute dimension, et siégeant dans la *couche corticale*.

COCU (1899) signale également, chez une jument, une suppuration rénale ayant entraîné la mort ; le pus contenait le bacille de Nocard.

POISSON et BUCK (1932) décrivent trois cas mortels de lymphangite ulcéreuse, observés chez le cheval à Madagascar : l'autopsie révèle dans un cas, une pseudo-tuberculose pulmonaire avec généralisation ganglionnaire ; dans un second cas, des foyers purulents rénaux et dans un dernier cas, de nombreux abcès sur la rate. Des cas semblables au premier ont été également observés par CAROUGEAU mais ne furent pas publiés.

Nous avons nous-même étudié une souche isolée d'abcès du rein d'un cheval, souche que nous a aimablement procurée M. RAMON.

DASSONVILLE (1905) a rencontré le bacille de Preisz-Nocard, assez souvent, dans diverses lésions, chez le cheval, entre autres dans certaines crevasses du pli du paturon, dans diverses chutes de peau, à la

(1) Centre de Recherches. Ecole d'Alfort.

suite de cautérisations ignées, dans des suppurations provoquées par des sétons. Deux des souches que nous avons récemment isolées proviennent l'une d'un mal de garrot, l'autre d'abcès survenus après l'application d'un feu en pointes sur le boulet.

Ces faits nous montrent que le bacille de Preisz-Nocard, vivant à l'état saprophyte dans le milieu extérieur, peut s'introduire dans l'organisme au niveau de toute lésion cutanée. Tous les auteurs ayant étudié la lymphangite ulcéreuse le signalent et certains ont pu réaliser expérimentalement l'affection chez le cheval ainsi que nous le verrons plus loin.

Dans sa première étude clinique de la maladie, NOCARD (1897) fait remarquer : « Plusieurs fois, la lymphangite procédait manifestement d'une crevasse du pli du paturon ou du pli du jarret ; mais le plus souvent, le point de départ de la lésion échappait à toute recherche. »

Le cas relaté par MOLLEREAU (1897) procédait d'un javart cutané très grave dans le pli du paturon (postérieur droit), celui décrit par JEANNOT (1903) était consécutif à une crevasse. Dans l'observation de DARMAGNAC (1904), « les germes vraisemblablement apportés par le sabot souillé d'un voisin ont été introduits au niveau de la plaie contuse de la jambe gauche ».

FLORIOT (1917) signale les méfaits de la boue des bivouacs agissant à la fois par sa basse température, l'action chimique de l'urine qui la souille, et les microbes qu'elle véhicule.

LAGNEAU (1918) montre que des chevaux ont pu contracter la maladie dans des écuries où trois mois auparavant vivaient des chevaux à lymphangite ulcéreuse (ce qui ne saurait nous étonner après ce que nous savons de la conservation de la vitalité de l'agent causal). Le même auteur signale trois cas de lymphangite ulcéreuse qui ont apparu en milieu infecté à la suite de piqûre de taons. D'après ses constatations, l'incubation varie de trois à quatre mois suivant que les lésions sont au-dessus ou au-dessous des genoux et des jarrets.

MULLIE (1919) confirme la contagiosité de l'affection. Il cite le cas d'un cheval contaminé par son compagnon d'attelage et un cas d'auto-inoculation, d'un membre à l'autre.

DELMER (1919) montre également le caractère contagieux de la maladie. Il est d'avis que les esquilles de bois des bat-flancs jouent un rôle inoculateur de premier ordre.

D'après CADÉAC (1911), les conditions favorables à la contagion se résument dans toutes les circonstances qui facilitent le transport des croûtes ou du pus des sujets malades sur la peau irritée, excoriée, déchirée ou enflammée des sujets sains.

Les expériences effectuées au Centre Militaire de Recherches à Alfort (1919) concernant la transmission de la maladie par la litière (animaux sains placés dans des stalles antérieurement occupées par des chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse) n'ont pas abouti.

WATSON (1918) met en contact deux chevaux sains, pendant

48 heures, avec 20 chevaux atteints, puis ils sont isolés ; un seul d'entre eux présente, 17 jours plus tard, une lésion typique. Cet animal avait reçu un coup de pied de son voisin qui était malade et c'est au niveau du traumatisme qu'est apparue la lésion.

BOQUET (1920) fait remarquer que le bacille de PREISZ-NOCARD se développe dans les matières excrémentitielles et contamine toutes les plaies accidentelles.

Sur 30 chevaux malades observés, MAILLAND (1930) constate que 22 ont été accidentés peu auparavant : 8 avaient été porteurs de blessures diverses, plaies déchirées, plaies contuses ; 10 avaient été porteurs de plaies par coup de pied, 4 avaient été porteurs de contusions ne semblant pas avoir intéressé la peau. Pour les 8 autres, il n'a pas été possible de trouver la porte d'entrée du virus. L'incubation est en moyenne de 40 jours et elle ne semble pas influencée par l'emplacement de la plaie, porte d'entrée du virus.

A Madagascar, CAROUGEAU (1925) montre qu'une tique *Amblyomma variegatum* joue un rôle dans la transmission de la lymphangite ulcéreuse et POISSON et BUCK (1932) rappelant les constatations faites par de nombreux vétérinaires dès 1905, émettent l'axiome suivant :

1°) dans toute région où il y a des tiques, les chevaux sont susceptibles de contracter la lymphangite ulcéreuse.

2°) Tout cheval porteur de tiques est un lymphangiteux en puissance.

3°) Les associations d'helminthes et de microbes sont susceptibles de déterminer des affections générales incurables.

CARPANO (1931), en Egypte, attribue également aux parasites un rôle transmetteur de la maladie.

Dans l'Est Africain, JAVRIS (1918) a constaté le rôle inoculateur des tiques (du genre *Amblyomma*). Les stomoxes et les mouches ne sont que des porteurs de virus sur les plaies ouvertes.

Enfin, STRAUS et WIGHT (1919) admettent qu'outre les traumatismes, les lésions cutanées parasitaires (gâles) peuvent jouer un rôle important comme portes de l'infection.

L'exposé précédent nous permet de conclure que les conditions indispensables à l'apparition de la lymphangite ulcéreuse sont :

1°) un traumatisme cutané.

2°) la source de virus (plaie spécifique suppurante, fumier souillé, instruments de pansage, objets de pansements, mains des infirmiers, insectes piqueurs).

Eosinophilie. — Nous signalerons à titre documentaire, que VAN SACEGHEM (1919) a toujours trouvé de l'éosinophilie chez les chevaux atteints de la lymphangite ulcéreuse.

Nous avons établi la formule leucocytaire de 12 chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse ; nous avons noté :

Dans 6 cas, légère polynucléose.

Dans 2 cas, mononucléose.

Dans 1 cas, légère éosinophilie (7 % d'éosinophiles).

Ces chiffres sont insuffisants pour nous permettre de conclure.

•
•

Nous terminerons ce chapitre en rappelant que dans plusieurs cas de lymphangite du cheval, simulant cliniquement la lymphangite ulcéreuse, divers auteurs : HAAN et AUGER, (1917), BRIDRÉ (1918), FAYET (1917), STRAUS et WIGHT (1919), MANNINGER (1920) etc....) n'ont pu mettre le bacille de Preisz-Nocard en évidence, mais seulement des agents pyogènes, tels que staphylocoques, streptocoques. Nous avons vu à propos des associations microbiennes qu'il convenait de faire des réserves sur ce point, et que parfois, le bacille de Preisz-Nocard, bien qu'existant, peut ne pas être décelé.

Quoiqu'il en soit, BELIN a proposé, en 1918, pour éviter la confusion, d'appeler lymphangite bacillaire la lymphangite ulcéreuse spécifique de Nocard, dénommant lymphangite staphylo-coccique et lymphangite micrococcique les autres lymphangites bactériennes.

II. — Mouton. —

Le bacille de Preisz-Nocard est l'agent de la lymphadénie caséuse, encore dénommée suppuration caséuse chez le mouton. Cette affection a été étudiée par de nombreux auteurs : NOERGAARD et MOHLER (1899), CHERRY et BULL (1899), CARRÉ et BIGOTEAU (1908), SIVORI (1899), CAUCHEMEZ (1923), HOWARD et YOUNG (1925), MARCHISOTTI (1928), DESCATZEAUX (1929), LIGNIÈRES (1929), CASSAMAGNAGHI (1930) etc... L'affection se caractérise par la présence d'abcès sous-cutanés et d'adénites souvent caséuses ; la plupart des ganglions sont atteints : préscapulaires, inguinaux, mammaires, précuraux, poplités, anaux et prépectoraux. Les ganglions mésentériques ne sont pas toujours atteints. Les lésions varient de la plus simple hypertrophie à l'abcédation.

Des lésions de pseudo-tuberculose pulmonaire, rénale ou hépatique, ont été observées [PREISZ (1894), GUINARD et MOREY (1893), GILBERTH (1902)] et même une véritable broncho-pneumonie caséuse a été décrite par SIVORI (1899).

Tous les auteurs ont remarquer que la lymphadénie caséuse due au bacille de Preisz-Nocard est une maladie des moutons adultes et c'est un des caractères que CARRÉ (1927) signale pour la différencier de la suppuration caséuse décrite par AYNAUD sous le nom de botryomycose et due à un staphylocoque (1922, - 23, - 27, - 28).

A titre documentaire, nous rapportons une statistique, établie sur deux cents animaux par WOODRUFF et OXER, en Australie, (1929), qui est très démonstrative :

Agneaux : 0

Brebis d'un an : 5,8 % d'infectés.

Moutons de 2 ans : 27 % d'infectés.

— de 3 ans : 39,9 % —

— de 4 ans : 39 % —

Brebis de 5 ans : 30,5 % d'infectés

Brebis de 6 ans : 30,6 % —

Brebis de différents âges : 10 % —.

Enfin, le bacille de Preisz-Nocard peut provoquer chez le mouton, des arthrites, BOURBON (1925), BERGEON (1926), des otites, CRAIG (1931), des lésions cérébrales, HARVEY et DAUBNEY (1931) et chez les brebis, des mammites, CARRÉ, (1910), ELOIRE, MABILAIS (1922).

De nombreux auteurs se sont attachés à rechercher les voies d'introduction naturelle du bacille chez le mouton. CARRÉ et BIGOTEAU (1908), montrent que si, avec des sujets porteurs de lésions ouvertes et suppurantes, on place des moutons neufs, ceux-ci ne tardent pas à présenter des abcès semblables à ceux des animaux infectés. Ces auteurs pensent que l'on doit admettre comme démontrée *l'infection par les voies digestives*, tous les animaux vivant dans la même loge, dans la plus étroite promiscuité, et absorbant des aliments souillés par le pus des abcès ouverts. Ils ne croient pas que les abcès soient le résultat d'une inoculation directe ; « la toison très épaisse des moutons suffirait à elle seule pour les protéger, en admettant même qu'il puisse se trouver dans la litière et le fourrage, des corps assez résistants et acérés pour perforer la peau du mouton. »

Les plaies de toute nature peuvent également cultiver le microbe, (plaie du cordon ombilical, plaie de section de la queue). Les aliments durs et acérés ou coupants, peuvent blesser la muqueuse buccale, (les chaumes notamment), le bacille peut se développer au niveau de ces plaies buccales.

Toutes les voies naturelles où artificielles lui sont bonnes pour pénétrer dans l'organisme, mais le point de pénétration du microbe importe peu dans l'origine des métastases. Toutefois, la proportion des abcès d'origine intestinale reste bien inférieure à celle des abcès d'origine ombilicale,

Ajoutons que CARRÉ (1910) a démontré expérimentalement la présence du bacille de Preisz-Nocard dans l'intestin des animaux vivant en milieu infecté, mais sains en apparence.

Quant à l'infection de la mamelle, elle se réalise pour CARRÉ par la voie sanguine et non par pénétration directe des germes dans la mamelle.

Pour DESCAZEUX (1929), il est possible que le bacille de Preisz-Nocard soit capable de vivre en saprophyte dans le sol, les eaux, le tube digestif et à la surface de la peau des animaux. La maladie caséuse se transmet certainement par contact direct ou indirect. Le microbe inoculé dans l'organisme à la faveur d'une effraction cutanée (castration, marque, amputation de la queue, tonte) possède une prédilection marquée pour le système ganglionnaire ; très souvent, il ne suscite aucune trace au point d'inoculation. DESCAZEUX est d'avis que le rôle de l'ingestion est négligeable dans l'évolution de la maladie (il n'a jamais observé de lésions intestinales ou mésentériques et les lésions du foie sont exceptionnelles).

H. R. SEDDON (1929), après une série de recherches, estime que la voie cutanée est celle que prend le plus souvent le bacille de Preisz-Nocard, chez le mouton. Ce mode d'effraction explique les réactions ganglionnaires localisées et les dermatites pustuleuses compliquant les accidents de photo-sensibilisation par *Medicago denticulata*, principalement. L'infection par inhalation est possible et il est probable que les lésions pulmonaires succèdent à l'infection de ganglions préscapulaires toujours observées dans la forme pulmonaire de la maladie. Le tube digestif peut être également la porte d'entrée du germe et il semble que l'infection se produit au niveau de la gorge pour suivre ensuite les lymphatiques.

SEDDON, BELSCHNER, ROSE et BLUMER (1929) concluent de leurs constatations que la maladie caséreuse du mouton peut être la conséquence de toutes lésions cutanées infectées par le bacille de Preisz-Nocard, principalement, les blessures consécutives à la tonte, la caudotomie et les petites plaies dues aux graminées de graminées. Les microbes peuvent être répandus soit dans la laine, soit sur les tondeuses. Celles-ci sont souillées par le pus des abcès cutanés qui ont été ouverts, au moment de la tonte. Rappelons, que ces auteurs ont montré que le pus desséché, qui se répand dans la laine, peut conserver sa virulence pendant un temps relativement long.

WOODRUFF et OXER, GREGORY (1929) confirment les recherches de SEDDON et de ses collaborateurs, concernant le mode d'infection de l'adénite caséreuse par les blessures dues à la tonte. Les mérinos dont le flanc se plisse facilement, sont souvent atteints par la maladie. Ces auteurs conseillent de désinfecter les tondeuses après chaque tonte, en commençant l'opération d'abord par les agneaux, puis progressivement sur les animaux de plus en plus âgés. Ils admettent *a priori*, que l'infection du poumon peut-être considérée comme probablement secondaire à une infection cutanée et favorisée par l'infestation vermineuse du poumon.

M. GRATH (1929), examinant le pus des plaies cutanées provoquées par la tondeuse, chez 4 moutons, a pu isoler dans 3 de ces pus, le bacille de Preisz-Nocard.

BUXTON (1930) admet que l'infection des moutons par le bacille de Preisz-Nocard peut être réalisée par la voie buccale aussi bien que par les blessures. Elle peut se propager par le contact des animaux atteints superficiellement, probablement par le moyen des insectes piqueurs.

Pour LIGNIÈRES (1929), l'infection des moutons par la voie digestive ne jouerait qu'un rôle très réduit. Cet auteur montre que le bacille de Preisz-Nocard peut se rencontrer dans la terre, réalisant des inoculations expérimentales avec des émulsions de terre provenant du sol de bergeries.

CARNE (1932) insiste sur la nécessité de désinfecter les tondeuses ; BULL et DICKINSON (1933) montrent que les blessures consécutives à la tonte, au marquage des agneaux peuvent être infectées très facilement par le sol qui héberge le bacille de Preisz-Nocard ; aussi con-

seillent-ils de changer de parcs les moutons, dès la pratique des opérations (tonte, marquage), pour éviter la lymphadénie caséuse. Pour éviter les dangers de la castration par voie sanglante, HUNTER (1933) recommande l'emploi de l'émasculateur.

A. D. THOMAS (1931) signale, enfin, que l'infection à bacille de Preisz-Nocard peut être due chez le mouton aux piqûres produites par les piquants des figues de Barbarie.

L'exposé précédent nous montre que, chez le mouton, comme chez le cheval, l'infection naturelle est essentiellement réalisée par la voie cutanée ; les recherches expérimentales que nous étudierons plus loin, confirment le rôle essentiel de la peau comme voie d'infection.

III. — Chèvre

La chèvre peut être atteinte, comme le mouton, de la lymphadénie caséuse. CARRÉ (1910) et ALTARA (1926) en citent plusieurs cas.

IV. Porc.

SÉRÈS et GUILLAUME (1908), LANGRAND et CHRÉTIEN (1909) ont pu identifier le bacille de Preisz-Nocard dans le pus d'abcès sous-cutanés et viscéraux chez plusieurs porcs.

V. Bovidés.

En 1890, KITT trouve dans des lésions de broncho-pneumonie du bœuf, un bacille semblant identique à celui de Preisz-Nocard.

NOCARD, en 1901, isole le bacille qu'il a décrit chez le cheval, dans des abcès pulmonaires de veaux ayant succombé à la « lung disease ».

LIÉNAUX décrit l'année suivante une dermite pustuleuse chez une génisse due au même bacille.

HALL et FISCHER l'isolent en 1915 dans des abcès d'un veau.

TRAUM en 1923 met en évidence le bacille de Preisz-Nocard dans deux cas de lymphangite des bovidés.

En 1932, DAINES et AUSTIN trouvent un bacille analogue, (mais acido-résistant) dans les lésions cutanées de bovins réagissant à la tuberculine et WATSON le met en évidence dans des lésions de l'endocardie, chez trois vaches récemment vélées.

En 1933, BULL (Australie) isole également le bacille de Preisz-Nocard chez une vache, des lésions cutanées et d'une adénite préscapulaire.

VI. Homme et singe.

En 1908, CARRÉ rapporte l'auto-observation d'une angine, au cours de laquelle il put mettre en évidence le bacille de Preisz-Nocard dans l'exsudat pharyngien. Plustard, il trouve le bacille (d'ailleurs avirulent) associé au staphylocoque dans une ancienne plaie fistuleuse d'un maki de Madagascar.

En 1916, GUERMONPREZ et DUJARRIC DE LA RIVIÈRE trouvent le bacille de Preisz-Nocard dans le pus de phlegmons, chez un soldat présentant une lymphangite phlegmoneuse à la suite d'une plaie du pied par fils de fer barbelés. GUERMONPREZ pense à une contamination par la paille de couchage, le soldat observé n'ayant jamais eu de contact avec des chevaux.

VII. Volailles.

Le bacille de Preisz-Nocard n'a aucun pouvoir pathogène pour les volailles. G. SMITH l'a rencontré chez le dindon, dans le pus des sinus infra-orbitaires. Les souches isolées par Mademoiselle LE SOUDIER et VERGE en 1924, dans les fausses membranes de deux poules diphtériques, étaient avirulentes.

Ces auteurs pensent que la présence du bacille de Preisz-Nocard au sein des fausses membranes de la diphtérie aviaire, a pu parfois prêter à confusion avec le bacille de Lœffler.

B) Action pathogène expérimentale

Voies d'introduction

Nous étudierons l'action pathogène expérimentale du bacille de Preisz-Nocard en partant, soit directement du pus, soit des cultures, chez les diverses espèces animales, par différentes voies d'introduction, rappelant les nombreuses recherches faites sur ce point et exposant le résultat de nos propres expériences.

I. Cobaye

1^o. — Voie sous-cutanée

Le cobaye est tué en 24 heures après injection sous-cutanée de culture pure du bacille (DIECKERHOFF et GRAWITZ, 1885).

D'après les expériences de PREISZ (1895), le cobaye recevant une injection sous-cutanée de culture meurt dans des délais variables, (2, 10, 35 jours), présentant un foyer nécrotique au point d'inoculation, avec nodules purulents caséux dans les ganglions lymphatiques, le foie, l'épiploon et la rate, hypertrophiée par des tumeurs confluentes.

« Après l'inoculation sous-cutanée, qu'il s'agisse de culture ou de pus, le cobaye présente en 4 ou 5 jours, au point d'inoculation, un abcès volumineux, peu sensible, qui s'ouvre plus ou moins vite, donnant issue à du pus épais et grumeleux ; la plaie se referme as-

sez lentement, laissant une cicatrice difforme, adhérente aux tissus sous-jacents ; ordinairement, d'autres abcès semblables se forment en un point plus rapproché du centre et évoluent comme le premier ; les ganglions paraissent échapper à l'infection ; la marche de la maladie est très lente et rarement les animaux succombent ». (NOCARD 1897).

Le bacille isolé de l'adénite caséuse du mouton, par NØRGAARD et MOHLER (1899) tue le cobaye en 15 à 18 jours par la voie sous-cutanée. Avec 3 cc. de culture injectée sous la peau, SIVORI (1899) tue le cobaye en 48 heures ; des doses moindres provoquent un abcès qui s'ouvre, se vide et se cicatrise. A l'autopsie, le cobaye présente des foyers caséux dans le foie, la rate et les poumons.

D'après CHERRY et BULL (1899), l'injection sous-cutanée de 1-2 cc. d'émulsion de pus tue le cobaye en 25 jours. Avec de fortes doses de cultures, le cobaye meurt en 24 heures avec œdème local ; avec de plus faibles doses, la mort se produit en 4 à 7 jours, avec nodule caséux au point d'infection ; avec des doses très faibles, le cobaye résiste, mais présente un nodule d'apparence sarcomateuse.

« L'inoculation d'une trace de cultures sur gélose, sous la peau de la cuisse d'un cobaye, fut suivie d'un gros noyau fluctuant qui s'ouvrit au bout de quelques jours pour donner issue à un pus caséux, un peu verdâtre : riche en bacilles. Ce cobaye mourut 3 semaines après, complètement cachectique, avec des abcès ganglionnaires multiples et des foyers purulents nombreux dans le foie, la rate et les poumons. » (CARRÉ et BIGOTEAU, 1908).

« L'inoculation sous-cutanée au cobaye, de pus dilué, ou de culture en bouillon ou sur gélose, donne lieu à la formation, en 6-8 jours, d'un abcès très net, le plus souvent volumineux et assez sensible. Cet abcès qui n'entraîne pas la mort de l'animal, car il a plutôt tendance à se résorber, renferme un pus épais, grumeleux, verdâtre, riche en bacilles... Dans un cas, il s'est formé au point d'inoculation, une plaie ulcéreuse à bords irréguliers, cicatrisant lentement pour aboutir à une adhérence à la peau avec les tissus sous-jacents. Toujours les ganglions correspondant à la région inoculée sont restés indemnes. » (SÉRÈS et GUILLAUME, 1908).

En 1910, PANISSET, s'inspirant de la méthode utilisée par M. NICOLLE, dans son étude de la morve expérimentale chez le cobaye, étudie l'action pathogène expérimentale chez cet animal, d'une souche de bacille de Preisz-Nocard isolé d'un abcès du rein du cheval. Pour cela, il utilise des cultures de 24 heures sur gélose-ascite. Les microbes, après raclage du milieu, sont pesés et émulsionnés dans de l'eau physiologique. L'unité choisie est le centigramme et les doses inoculées de 1/10 de cg., 1/100 de cg., 1/1000 de cg. sont représentées de la manière suivante : 10^{-1} 10^{-2} 10^{-3} .

Des doses variant entre 10^5 et 10^9 , inoculées sous la peau, déterminent l'apparition d'un abcès avec retentissement ganglionnaire plus ou moins accusé, en général, assez marqué. L'abcès dont le volume

varie de celui d'un pois à celui d'une noisette, présente des alternatives d'ouverture et de fermeture, généralement à deux reprises. La guérison survient en 5 à 6 semaines. L'émaciation n'est que transitoire, peu marquée, et peut faire totalement défaut.

En 1912, SIVORI obtient un abcès local avec métastase en inoculant le pus de moutons, sous la peau du cobaye. L'injection sous-cutanée d'une petite dose de culture provoque un abcès local avec métastase ; une dose élevée tue en 24 ou 48 heures, avec production locale d'une plaque de pus, œdème séro-gélatineux, congestion des poumons, foie, reins, capsules surrénales et intestin, épanchements pleural et péricardique.

En 1931, BULL et DICKINSON, afin de pouvoir titrer facilement la virulence du bacille de Preisz-Nocard, utilisent des émulsions homogènes obtenues de la façon suivante : on part d'une culture de 24 heures sur gélose, dont les germes sont émulsionnés dans une solution de chlorure de sodium à 0,1 pour 100, à laquelle on ajoute une solution stérile de sels biliaires à 10 p. 100 de façon que la concentration totale de ces sels soit de 0,12 p. 100. L'émulsion microbienne est mise dans un tube de verre contenant des perles de verre et soumise à une agitation mécanique pendant 15 minutes. Elle est centrifugée, le liquide surnageant est décanté et il est remplacé par le même volume de la solution salée biliaire. Puis elle est soumise, deux fois consécutives, à une nouvelle agitation suivie de centrifugation. L'émulsion est enfin filtrée sur papier Postlip n° 6.335 ; le filtrat est homogène et renferme des germes isolés. C'est avec ce filtrat que les auteurs ont effectué leurs recherches sur le cobaye.

L'inoculation sous-cutanée provoque chez cet animal une infection rapide de l'appareil lymphatique avec adénites inguinales, cervicales et précurales fréquentes. Le foie et la rate sont souvent atteints.

Si l'on compare les résultats obtenus par ces auteurs, on voit que l'inoculation de pus ou de culture sous la peau du cobaye entraîne toujours la formation d'un abcès, même à des doses infimes (PANISSET), avec retentissement ganglionnaire particulièrement marqué avec les souches isolées du mouton, mais peu fréquent avec celles isolées du cheval. La mort n'est observée qu'avec des doses élevées.

Nous avons étudié l'action pathogène de nombreuses souches et nous avons été frappés par l'extrême variabilité de leur virulence propre. Certaines souches sont très virulentes, d'autres le sont peu, et une seule fois, il est vrai, nous en avons isolé une, complètement avirulente (CARRÉ et BIGOTEAU, BROCC-ROUSSEU et URBAIN (1925) ont signalé plusieurs souches avirulentes).

Il y a en général, corrélation entre l'action pathogène expérimentale et la gravité de l'affection observée chez le cheval.

En 1930, G. RAMON, R. DEBRÉ et P. THIROLOIX ont attiré l'attention sur le pouvoir pathogène du bacille diphtérique et ont mis au point

une technique permettant de provoquer chez l'animal d'expérience, les manifestations du pouvoir pathogène appartenant au germe lui-même et qu'ils qualifient de « *pouvoir pathogène essentiel* ».

L'étude du pouvoir pathogène essentiel du bacille de LÖEFFLER a permis aux auteurs d'établir et de fixer facilement la nature et l'importance du rôle du germe dans chaque cas de diphtérie et aussi et surtout dans les épidémies de diphtérie.

Nous nous sommes inspirés de cette méthode pour étudier le pouvoir pathogène essentiel du bacille de Preisz-Nocard, par voie sous-cutanée chez le cobaye.

La souche isolée est ensemencée sur toute la surface d'un tube de gélose (17 mm. de diamètre) et en un tube de 10 cc. de bouillon Martin. Après 24 heures d'étuve, le tube de gélose est additionné de 10 cc. d'eau physiologique ; la culture du bacille de Preisz-Nocard est râclée et émulsionnée avec soin dans l'eau physiologique. Avec cette émulsion et avec la culture en bouillon, on prépare des dilutions au 1/10, au 1/100 etc.... On injecte sous la peau de cobayes neufs pesant de 3 à 400 grs., ces dilutions, sous le volume de 3 cc. d'eau physiologique pour l'émulsion (1 cc. de la dilution + 2 cc. d'eau physiologique) et sous le volume de 3 cc. de bouillon pour la culture en milieu liquide (1 cc. de la dilution de cette culture + 2 cc. de bouillon frais). Voici quelques-uns de nos essais :

Souche berlue (isolée d'un mal de garrot).

I. — Culture de 24 heures sur gélose, émulsionnée dans 10 cc. d'eau physiologique, injectée sous la peau de cobayes aux doses suivantes :

a) sous le volume de 1 cc. d'eau physiologique, 1/10 cc. de l'émulsion : survie avec abcès minime.

b) sous le volume de 3 cc. d'eau physiologique, 1/10 cc. de l'émulsion ; survie avec abcès gros comme une noisette, puis escharre.

II. — Culture de 24 heures en bouillon Martin, injectée aux doses suivantes :

a) sous le volume de 1 cc. de bouillon, 1/10 cc. : survie avec abcès et escharre.

b) sous le volume de 3 cc. de bouillon, 1/10 cc. : mort en 10 jours, avec abcès et large placard gélatineux sous-cutané.

Souche cobaye Berlue

1° Culture de 24 heures sur gélose, émulsionnée dans 10 cc. d'eau physiologique, injectée aux doses suivantes :

a) sous le volume de 1 cc. d'eau physiologique, 1/10 cc. de l'émulsion : Survie avec abcès et escharre.

b) sous le volume de 3 cc. d'eau physiologique, 1 cc. de l'émulsion : Mort en 11 jours, avec abcès et large escharre.

2° Culture de 24 heures en bouillon Martin.

a) 1/10 cc. injecté sous le volume de 1 cc. de bouillon : mort en trois jours.

b) 1/10 cc. injecté sous le volume de 3 cc. de bouillon : mort en 48 heures.

Souche 784 (isolée depuis 2 mois)

1^o Culture de 24 heures sur gélose émulsionnée dans 1 cc. d'eau physiologique :

a) 1/10 cc. d'émulsion injecté sous le volume de 1 cc. d'eau physiologique : survie avec abcès et escharre.

b) 1/10 cc. d'émulsion injecté sous le volume de 3 cc. d'eau physiologique : Mort en 6 jours.

2^o Culture de 24 heures en bouillon Martin.

a) 1/10 cc. injecté sous le volume de 1 cc. d'eau physiologique : Mort en 18 heures.

b) 1/10 cc. injecté sous le volume de 3 cc. d'eau physiologique : Mort en 36 heures.

Souche Chandarae. (1^{er} passage après isolement)

1^o Culture de 24 heures sur gélose émulsionnée dans 1 cc. d'eau physiologique :

a) 1/10 cc. d'émulsion, injecté sous le volume de 1 cc. d'eau physiologique : mort en 48 heures.

b) 1/10 cc. d'émulsion, injecté sous le volume de 3 cc. d'eau physiologique : mort en 36 heures.

2^o Culture de 24 heures en bouillon Martin :

a) 1/10 cc. de bouillon injecté sous le volume de 1 cc. de bouillon mort en 24 heures.

b) 1/10 cc. de bouillon injecté sous le volume de 3 cc. de bouillon mort en 18 heures.

Ces expériences nous permettent de faire des constatations analogues à celles de Ramon et de ses collaborateurs pour le bacille diphtérique. En ajoutant à la culture de l'eau physiologique ou du bouillon immédiatement avant l'injection, on renforce le pouvoir pathogène du germe étudié. Par suite d'une erreur, la culture en bouillon de la souche 784 a été diluée dans de l'eau physiologique au lieu de bouillon, ce fut l'injection du plus petit volume qui entraîna la mort la plus rapide. Il eut été intéressant d'additionner également les cultures de poudre de tapioca, mais les moyens d'expériences nous ont manqué.

Les expériences précédentes nous montrent également combien est variable le pouvoir pathogène essentiel du bacille, suivant son origine.

Nous avons d'autre part, étudié l'action pathogène du bacille de Preisz-Nocard, en dosant la quantité de germes injectés, suivant la méthode de Panisset. Le bacille est ensemencé sur un tube de gélose. Après 24 heures, les colonies microbiennes sont prélevées avec une ôse puis pesées. Nous avons pu constater par la moyenne de nos pe-

sées, qu'une culture entière de microbes humides sur un tube de 4 cc de gélose inclinée, pesait en général 2 centigrammes.

Les germes sont émulsionnés dans de l'eau physiologique à raison de 1 cg. dans 10 cc., ce qui permet de faire facilement des dilutions contenant $1/100^e$, $1/1000^e$ etc..... de cg. de microbes. Etant donné la difficulté de faire des émulsions homogènes avec les colonies de bacilles de Preisz-Nocard, toujours agglutinés, nous avons toujours soin d'agiter pendant $1/4$ d'heure dans un tube contenant des perles de verre, l'émulsion initiale. D'autre part nous nous sommes assurés expérimentalement que l'eau physiologique n'avait pas une action destructive sur le bacille de Preisz-Nocard.

Nous avons injecté sous la peau de cobayes (poids moyen: 450 gr.) de nombreuses souches dans ces conditions. Voici les résultats constatés :

Doses injectées : $4/10^e$ de cg. 1 souche tue le cobaye en 48 heures, avec abcès local gros comme une noisette.

Avec 1 autre souche, le cobaye survit, après avoir présenté un abcès, puis une escharre large comme une pièce de un franc.

2/10 ^e de cg :	{	mort en 15 jours, (avec amaigrissement, abcès local et escharre)
suivant les souches.		mort en 3 jours.
		mort en 2 jours.

$1/10^e$ de cg. de nombreuses souches injectées à cette dose ne tuent pas le cobaye mais provoquent seulement la formation d'un abcès qui s'ouvre vers le 6^e ou 8^e jour, se transforme en escharre ulcérée, puis cicatrise le 15^e jour.

Une de nos souches très actives, tue le cobaye à la dose de $1/10^e$ de cg. en 18 heures.

A la dose de $1/100^e$ de cg. cette même souche tue le cobaye en 40 heures.

A la dose de $1/1000^e$ de cg. aucune de nos souches n'entraîne la mort, mais jusqu'à des doses infimes (10^{-8}), il y a toujours formation d'un abcès variant des dimensions d'une noisette à celle d'un grain de miel.

Nous n'avons jamais observé comme NOCARD, d'abcès à répétition ou se formant autour de l'abcès initial. Dans tous les cas, le pus de l'abcès formé renferme le bacille de Preisz-Nocard.

A l'autopsie des cobayes morts, nous n'avons jamais noté de réactions ganglionnaires, mais seulement un amaigrissement marqué, une congestion générale des viscères, et parfois de la péritonite fibrino purulente. Dans aucun cas, l'ensemencement du sang du cœur ne permit de mettre l'agent causal en évidence.

2^o Voie cutanée ou intradermique.

Peu d'auteurs ont recherché la sensibilité du derme du cobaye au bacille de Preisz-Nocard.

FONTAINE et MESPOULET (1913) en frottant la peau du cobaye dont les poils ont été préalablement coupés, avec une goutte de pus récemment prélevé (dermite pustuleuse), déterminent après 12 ou 24 heures, de la rougeur et une légère tuméfaction; mais il n'y a pas formation de vésicules, ni de pustules.

CASSAMAGNAGHI (1930) montre que l'on peut provoquer chez le cobaye par le seul dépôt de l'émulsion microbienne sur la peau intacte, non dépilée, l'évolution de l'infection caséuse selon le type même de la maladie naturelle chez le mouton.

CÉSARI (1930) constate que lorsqu'on inocule dans le derme du coussinet tarsien de la patte d'un cobaye 1/8^e de cc. d'une dilution microbienne obtenue en émulsionnant 1 cg. de culture de bacille de Preisz-Nocard sur gélose, âgée de 24 heures, dans 10 cc. d'eau physiologique, on assiste tout d'abord à une tuméfaction énorme de la patte postérieure, précédant la formation d'un abcès dans le creux du coussinet plantaire. Dans les semaines qui suivent, on sent à la palpation une hypertrophie du ganglion poplité, puis du ganglion inguinal du côté correspondant à la partie inoculée. Ces ganglions peuvent atteindre le volume d'une noisette; ils contiennent du pus caséux où se retrouve le bacille de Preisz-Nocard.

BULL et DICKINSON (1931) obtiennent avec l'inoculation intradermique des résultats comparables à ceux de l'inoculation sous-cutanée (voir précédemment).

D'après nos expériences chez le cobaye, la voie intradermique s'est montrée comme une des meilleures voies d'introduction du bacille de Preisz-Nocard. Les émulsions préparées, comme nous l'avons indiqué plus haut, sont injectées dans le derme du coussinet tarsien, à des doses variables. Voici les résultats de nos observations, variables suivant les souches utilisées :

Plusieurs souches injectées à la dose de 1/10^e de cg. tuent le cobaye en 36-48 heures. Certaines ne le tuent à cette dose qu'en 5 ou 6 jours.

Quelques souches injectées à la dose de 1/100^e de cg. tuent le cobaye en 5 jours, et en 18 jours à la dose de 1/1000^e de cg.

Une de nos souches les plus actives a tué le cobaye dans des délais variant de 3 à 9 jours, aux doses de 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, et 10⁻⁶.

Avec une autre souche injectée à la dose de 10⁻⁵, le cobaye a résisté; mais ce dernier ayant succombé à la suite d'un essai de vaccination, l'autopsie montra, 2 mois après l'injection, un abcès gros comme un œuf de pigeon développé sur la rate, abcès contenant du bacille de Preisz-Nocard à l'état pur.

À la suite de ces injections intradermiques, nous avons toujours fait des constatations analogues à celles décrites par CÉSARI : volumineuse tuméfaction lie de vin du coussinet tarsien, suivie fréquemment

d'abcédation puis d'escharre demandant plus d'un mois pour cicatriser, hypertrophie puis abcédation du ganglion poplité et du ganglion inguinal.

Dans tous les cas, les cobayes maigrissent et parfois, nous avons noté une véritable cachexie (perte de poids de 180 grammes en 5 jours).

Une seule fois, l'ensemencement du sang du cœur nous donna une culture pure de bacille de Preisz-Nocard.

Nous rapporterons enfin avec un peu plus de détails une observation qui fut exceptionnelle : Le 16 février 1932, un cobaye mâle de 460 grs reçoit dans le derme plantaire 1/5 cg. de bacilles. Dès le lendemain, le coussinet tarsien est œdémateux, puis violemment congestionné. Le 5^e jour, les testicules ne remontent plus dans le péritoine, et le scrotum est le siège d'un œdème chaud et douloureux. Vers 10^e jour, on perçoit les ganglions de l'aîne hypertrophiés (volume d'un gros poids). Au bout de 15 jours, le scrotum s'abcède, et sa ponction laisse écouler un pus renfermant du Preisz-Nocard à l'état pur. Le 15 Mars 1932, les testicules sont atrophiés et non perceptibles. En juillet, on assiste à une nouvelle poussée purulente au niveau du scrotum et le pus qui s'écoule renferme du Preisz-Nocard. La mort survient le 26 Septembre 1932 ; l'autopsie révèle une péritonite purulente avec hypertrophie des ganglions inguinaux et mésentériques. Le tissu testiculaire a complètement disparu et la gaine vaginale ne contient que du pus.

Ce cas bien qu'exceptionnel, nous montre qu'une injection intradermique peut avoir chez le cobaye mâle une action pathogène semblable à celle de l'inoculation intrapéritonéale que nous allons étudier ci-dessous.

Nous avons, également, frotté la peau de cobayes soit dépilée, soit sacrifiée, avec une émulsion microbienne contenant 1 cg. de bacilles dans 10 cc. d'eau. Les cobayes résistent, mais présentent dès le lendemain une forte inflammation locale au niveau de la friction ; en quelques jours, une escharre se forme puis tombe, laissant persister une plaie ulcéreuse ne cicatrisant qu'au bout de 3 semaines à un mois.

3°. — Voie intra-péritonéale.

NOCARD utilisa le premier (1897) cette voie avec le bacille qu'il isola de la lymphangite ulcéreuse, et nous résumerons la description si exacte qu'il a faite des résultats de cette inoculation :

Si l'on injecte dans la cavité péritonéale d'un cobaye mâle 1/2 cc. de dilution purulente, (1 anse de pus dans 1/cc. d'eau bouillie), en quelques jours, on voit survenir une orchite intense, ordinairement vers le 3^{ème}, mais elle peut apparaître entre la 37^e heure et 4 ou 5 jours. La région des bourses forme une tumeur inflammatoire considérable, chaude, tendue, très douloureuse à l'exploration ; le scrotum est d'un rouge violacé, luisant, adhérent aux testicules qu'on ne peut plus faire rentrer dans l'abdomen.

La mort peut être rapide ou lente suivant la virulence du microbe ; parfois, le cobaye inoculé survit. Les lésions consistent en une inflammation intense de la gaine vaginale ; les 2 feuillets de la séreuse sont d'abord soudés par un exsudat fibrineux qui subit rapidement la fonte purulente, en sorte que parfois, le testicule atrophié baigne dans une nappe de pus épais et grumeleux. Enfin, il n'est pas rare de voir le testicule presque entièrement détruit par la suppuration. L'exsudat fibrineux et le pus sont toujours très riches, en amas bacillaires.

Le péritoine renferme un peu de liquide louche, gluant et visqueux ; çà et là, le mésentère est couvert de petits amas purulents ; l'épiploon renferme presque toujours de petits foyers caséux en nombre variable.

Quand les animaux survivent, on voit, d'ordinaire, la région des bourses devenir fluctuante en un ou plusieurs points ; le scrotum s'amincit, puis s'ulcère, donnant issue à un peu de pus grumeleux ; la plaie se referme lentement, laissant une cicatrice fibreuse, irrégulière, adhérente aux tissus sous-jacents.

L'autopsie de ces animaux sacrifiés peut ne montrer aucune lésion ; tantôt au contraire, et le plus souvent, il existe un, deux ou trois foyers purulents énormes, enkystés, soit dans l'épiploon, soit dans la rate, soit dans le foie, à l'intérieur d'une coque épaisse et résistante.

Si l'on injecte dans le péritoine de cobayes mâles un peu de culture récente, ordinairement l'animal succombe en 24, 36 ou 48 heures avec une hypothermie intense, sans lésions testiculaires. A l'autopsie, on trouve de la rougeur de l'intestin, qui est distendu par des gaz, un exsudat péritonéal abondant, légèrement louche et visqueux, avec çà et là quelques grumeaux purulents adhérents au mésentère, ou interposés entre le foie et le diaphragme ; enfin et surtout, l'épiploon épaissi et noueux, renferme entre ses deux lames séreuses un grand nombre de petits foyers purulents.

En diluant convenablement la culture, on peut arriver à produire une orchite analogue à celle déterminée par l'inoculation du pus.

Après NOCARD, tous les auteurs, ayant étudié le bacille de Preisz-Nocard, ont fait les mêmes constatations mais il faut noter qu'avec les souches isolées du mouton, l'inoculation intra-péritonéale entraîne souvent la mort par péritonite fibrino-purulente, sans orchio-vaginalite (SIVORI, 1899),

Le bacille isolé par NOERGAARD et MOHLER (1899) tue le cobaye en 8-15 jours, par voie intrapéritonéale à la dose de $1/3$ à $3/4$ de cc. de culture. Le foie et la rate, les ganglions lymphatiques présentent des nodules caséux.

PANISSET (1910) a repris la question et a étudié en détails, l'action pathogène du bacille de Preisz-Nocard par voie intrapéritonéale, chez le cobaye mâle adulte, chez le cobaye femelle adulte et chez les jeunes cobayes mâles.

Les doses inoculées sont calculées suivant la méthode que nous avons exposée précédemment. Voici les résultats obtenus par l'auteur :

1° Chez le cobaye mâle adulte. — La dose limite active, déterminant encore une lésion locale est 10^{-9} . Pour obtenir des lésions génitales, il faut au moins une dose de 10^{-7} . Les résultats sont certains avec 10^{-5} . Avec la souche ayant un peu perdu sa virulence, il fallut une dose de 10^{-3} .

La mort est obtenue aux doses suivantes :

10^{-1} : mort en 3 jours 1/2

10^{-2} : — — 6 jours

10^{-3} : — — 5 jours 1/2

10^{-4} : — — 10 jours

10^{-5} : — — 11 jours 1/2

10^{-6} : — — 12 jours

PANISSET attire en particulier l'attention sur le fait que la séreuse qui revêt la face péritonéale du *musculus testis* offre une plus grande sensibilité que la muqueuse péritonéale, (constatations analogues à celle de Nicolle pour la morve). C'est en effet sur cette séreuse qu'apparaissent les premières localisations purulentes du bacille de Preisz-Nocard : petites granulations blanc-jaunâtres, jamais entourées de zone congestive.

2° Chez le cobaye femelle adulte. — Les femelles sont moins sensibles à l'inoculation intrapéritonéale du bacille que les mâles.

Avec 10^{-3} , on ne note qu'un nodule local insignifiant.

Avec 10^{-1} et 10^{-2} , il y a formation d'un abcès superficiel au point d'injection, et d'un nodule adhérent à la paroi abdominale dans le péritoine.

La dose 10^{-1} mortelle pour le cobaye mâle en 3 jours 1/2 ne tue pas le cobaye femelle. Toutefois, PANISSET signale un cas mortel en 38 jours 1/2 mais avec des lésions de pneumonie non spécifique.

3° Jeunes cobayes mâles. — (150 gr.) Un jeune cobaye succombe en 14 jours après inoculation intrapéritonéale d'une dose de 10^{-6} , avec petit nodule local. Un autre meurt en 22 jours avec 10^{-4} , avec abcès sous-cutané et sous-péritonéal. Les testicules sont atrophiés.

Nous rappellerons que PANISSET (1910) a montré que la vaginalité expérimentale du cobaye mâle apparaît comme une localisation banale, consécutive à l'inoculation péritonéale de tous les éléments figurés lentement résorbés (microbes morts, particules inorganiques) ou des germes capables de provoquer des infections chroniques. Avec LOISEAU (1908) il a constaté que le bacille diphtérique pouvait, dans certaines conditions, (après injection de sérum antidiphtérique ou mélangé à l'antitoxine) ou à faibles doses (10^{-1} , 10^{-2}), déterminer par inoculation intrapéritonéale, l'apparition des manifestations génitales.

PANISSET fait remarquer également que l'orchite morveuse est toujours accompagnée de phénomènes inflammatoires intenses qui ne sont jamais observés par inoculation du bacille de Preisz-Nocard. La forme ectopique (caractérisée par la persistance du testicule dans l'abdomen) signalée par NICOLLE dans la morve est rarement provo-

quée avec le bacille de Preisz-Nocard. PANISSET en a observé un seul cas avec la dose de 10^{-1} .

Les nombreuses inoculations intrapéritonéales que nous avons pratiquées chez les cobayes mâles ou femelles, n'ont fait que confirmer les résultats exposés par PANISSET. Naturellement, nos constatations ont été variables suivant le pouvoir pathogène des souches étudiées.

Chaque fois qu'une de nos souches est isolée, nous prélevons une ôse de voile sur une culture en bouillon après 24 heures d'étuve et la diluons dans 5 cc. d'eau physiologique. 1 cc. de cette émulsion est injecté dans le péritoine d'un cobaye mâle. Toutes nos souches de bacilles de Preisz-Nocard, sauf une seule, ont entraîné dans ces conditions une orchio-vaginalite caractéristique. Dans certains cas, (souches très virulentes) la mort est survenue avant l'apparition des manifestations génitales ; il faut alors faire une dilution plus élevée (1 ôse de voile dans 8 ou 10 cc., injection d'1 ou 1/2 cc. d'émulsion).

En utilisant des émulsions de cultures sur gélose (comme pour les injections sous-cutanées ou intradermiques), nous avons pu faire les constatations suivantes :

Avec 1/2 de cg : les cobayes de 400 à 500 gr. succombent en 24 heures, 2 jours, 9 jours, suivant la virulence du germe. Un cobaye de 790 gr. après avoir présenté une vaginalite caractéristique et une abcédation du scrotum, ne mourut qu'après cinq mois. Un autre de 700 gr. injecté le 27-7-32 mourut le 15-12-32, considérablement amaigri (470 gr.) après avoir présenté également les lésions classiques. Enfin, un cobaye résista à cette dose de 1/5 de cg. et ne présenta qu'un léger œdème scrotal, non suivi d'abcédation.

Avec 1/10 cg. (10^{-1}) : la plupart des cobayes injectés succombent en 24-48 heures,

Avec 10^{-2} : mort, en moyenne, en 9 jours avec vaginalite suppurée.

Avec 10^{-3} : mort en 10-12 jours avec vaginalite suppurée.

Avec 10^{-4} : mort en 13 jours — — —

Avec 10^{-5} : mort en 18 jours — — —

Avec 10^{-6} : la mort n'a été observée qu'exceptionnellement en 15-20 jours. Plusieurs cobayes résistent à cette dose mais présentent toujours les phénomènes génitaux.

Avec 10^{-7} et 10^{-8} , la mort n'a été observée qu'une seule fois en 15 jours avec une souche particulièrement virulente. A cette dose, les phénomènes génitaux sont inconstants. Parfois, nous avons pu noter un léger œdème du scrotum disparaissant en une dizaine de jours.

Avec 10^{-9} , nous n'avons jamais obtenu de lésions génitales mais seulement un petit abcès minuscule au point d'inoculation.

Nous ne décrivons pas les lésions constatées à l'autopsie de nos cobayes inoculés par voie intrapéritonéale car elles ont toujours répondu à la description qu'en a faite NOCARD. Les localisations primitives sur le *musculus testis* ont toujours été observées (chez les cobayes succombant rapidement). Nous avons également noté dans la majorité des cas, la présence de granulations purulentes sur l'épiploon,

en particulier sur toute la grande courbure de l'estomac et sur le pancréas.

Dans un cas, (cobaye ayant résisté 5 mois à l'inoculation de $1/5$ de cg.), l'autopsie a révélé, outre une atrophie complète des testicules, un abcès gros comme une noix situé entre la rate et le rein gauche, renfermant un pus caséeux très riche en bacilles.

Nous n'avons jamais constaté de formes ectopiques.

Chez les cobayes femelles, seule la dose de 10^{-1} est, en général, mortelle dans des délais variant de 20 à 27 jours. Les doses plus faibles, bien que mortelles pour le cobaye mâle, ne déterminent qu'un abcès local. Une de nos souches cependant tua un cobaye femelle en 3 jours à la dose de 10^{-3} .

Les lésions consistent en une péritonite fibrino-purulente, avec de nombreux abcès miliiaires sur l'épiploon.

Enfin, signalons que dans aucun cas, aussi bien chez le cobaye mâle que chez le cobaye femelle, l'ensemencement du sang du cœur des animaux ayant succombé, n'a donné de cultures du bacille inoculé par voie intra-péritonéale.

4°. — Voie intracardiaque

PANISSET, (1910) est le seul auteur ayant pratiqué des inoculations intracardiaques de bacilles de Preisz-Nocard, chez le cobaye.

Avec 10^{-1} , la mort est obtenue en 5 jours $1/2$,

Avec 10^{-2} , la mort est obtenue en 13 jours $1/2$,

Avec 10^{-3} , la mort est obtenue en 19 jours,

Avec 10^{-4} , on note seulement une émaciation légère et transitoire.

Aux trois premières doses, l'inoculation intracardiaque provoque une éruption pustuleuse. Les pustules apparaissent tout d'abord sur la région du thorax dépilée pour l'inoculation, puis ultérieurement aux aines, sur le fourreau, le scrotum, le bout du nez, les parties inférieures des membres. Les pustules s'ouvrent, se dessèchent, puis se fait une nouvelle poussée. L'éruption s'accompagne d'ostéo-périostites (articulations radio-métacarpiennes, tibio-tarsiennes, interphalangiennes, os de la face, ischions, apophyses épineuses des vertèbres dorsales). On peut noter également une éruption sur les testicules.

Les nombreuses inoculations intracardiaques que nous avons pratiquées, ne nous ont jamais permis d'obtenir d'éruption pustuleuse aussi généralisée, et de lésions articulaires ou osseuses. Dans les cas, rapidement mortels, nous n'avons pu observer que quelques pustules (5 ou 6) au niveau du thorax et quelquefois aux aines et dans la région axillaire.

La mort fut obtenue plus rapidement et avec des doses bien inférieures à celles de PANISSET :

en 24-36 heures, avec 10^{-1} ,

en 3-4 jours, avec 10^{-2} ,

en 5 jours, avec 10^{-3} ,

en 13 jours avec 10^{-4} ,

en 17 jours dans un cas, et 22 dans un autre, avec 10^{-5} (amaigrissement considérable).

En 2 mois et 13 jours, avec 10^{-6} .

En 4 mois avec 10^{-7} .

Les doses inférieures à celle-ci ne sont pas mortelles.

Avec les doses inférieures à 10^{-4} , nous n'avons pas observé de pustules mais une abcédation généralisée, sous la peau du dos, dans les muscles, sur le foie, la rate, mais jamais dans les poumons. Les ganglions qui s'hypertrophient vers le 15^e jour sont également abcédés. Les abcès sous-cutanés et intramusculaires ont la grosseur d'une noisette ; les abcès viscéraux, très nombreux, ont le volume d'un petit pois. Tous renferment un pus épais, crémeux, un peu verdâtre, peu riches en bacilles, néanmoins existants.

Dans deux cas, l'ensemencement du sang du cœur, nous fournit une culture pure du bacille inoculé.

Sur les conseils du Professeur PANISSET, nous avons essayé de traumatiser la peau sur différents points du dos (en arrachant les poils), chez des cobayes inoculés par voie intracardiaque. Nous n'avons jamais vu apparaître de pustules sur les zones dépilées.

5°. — Voie intraveineuse

Nous avons injecté les émulsions microbiennes soit dans la jugulaire du cobaye, après dissection de la région, soit depuis qu'elle nous est connue, suivant la technique préconisée par LE GUYON (1931), dans la veine dorsale de la verge.

Les doses de 10^{-1} et de $1/20^e$ de cg. sont mortelles en 24 heures.

La dose de 10^{-2} tue en 5 jours.

celle de 10^{-3} tue en 7 jours ;

celle de 10^{-4} tue en 30 jours ;

celle de 10^{-5} tue en 35 jours ;

La dose de 10^{-6} n'est pas mortelle.

Les cadavres sont toujours émaciés. Les ganglions sont légèrement hypertrophiés, mais nous n'avons jamais noté à l'autopsie de lésions purulentes. Dans un cas, l'ensemencement du sang du cœur donna une culture positive du bacille inoculé.

6°. — Voie intra-trachéale

Après dissection de la région cervicale, l'injection est pratiquée avec une courte aiguille entre deux anneaux trachéaux.

la dose de 10^{-1} est mortelle en 24 heures,

celle de $1/20$ cg. est mortelle en 36 heures ;

celle de 10^{-2} est mortelle en 48 heures ;

celle de 10^{-3} est mortelle en 8 jours.

La dose de 10^{-4} n'est pas mortelle.

L'autopsie montre une légère congestion pulmonaire dans les cas rapidement mortels.

Avec 10^{-3} nous avons observé à l'autopsie, plusieurs abcès pulmonaires variant de la grosseur d'une tête d'épingle à celle d'un pois, renfermant du bacille de Preisz-Nocard, et une hypertrophie des ganglions du hile et de l'entrée de la poitrine.

Dans deux cas, l'ensemencement du sang du cœur nous donna une culture pure du bacille inoculé.

7°. — *Voie intramusculaire.*

L'injection d'émulsion microbienne est pratiquée dans les muscles de la cuisse du cobaye. Les doses de 10^{-4} et 10^{-2} sont mortelles en 24 et 48 heures. La dose de 10^{-3} ne tue pas le cobaye mais provoque la formation d'un gros abcès local, avec réaction ganglionnaire. Cet abcès s'ouvre vers le 7^e jour en formant une plaie ulcéreuse persistant encore 1 mois après l'inoculation. La cicatrisation ne s'effectue qu'au bout d'un mois et demi.

8°. — *Voie digestive.*

SIVORI (1899) faisant ingérer à des cobayes du pus caséux ne contenant pas uniquement le bacille de Preisz-Nocard a constaté que ces animaux mouraient avec des lésions septicémiques sans qu'on puisse retrouver le bacille dans le sang ou dans les viscères.

BULL et DICKINSON (1931) ont constaté que la voie digestive, moins sévère que les voies cutanées ou sous-cutanées, permet cependant d'infecter sûrement un certain nombre de cobayes (59 sur 99 mis en expérience) en utilisant des émulsions microbiennes préparées suivant la technique que nous avons décrite précédemment. Chez les animaux ayant succombé, on note des adénites cervicales et sous-maxillaires nombreuses ; le foie et les poumons sont ensuite fréquemment atteints.

Les essais que nous avons tentés nous ont permis d'infecter le cobaye par voie digestive mais avec des doses très élevées. Il a fallu administrer la dose de 1 cg. répétée à 4 ou 5 jours d'intervalle, quatre fois de suite pour tuer le cobaye en une vingtaine de jours.

A l'autopsie, le cadavre est émacié ; dans un cas, nous avons noté la présence d'un abcès gros comme une noix dans le poumon gauche (avec pus renfermant du bacille de Preisz-Nocard). Les ganglions mésentériques sont hypertrophiés mais jamais purulents. Le sang du cœur reste stérile.

II. Lapin.

1°. — *Voie sous-cutanée.*

D'après NOCARD (1896), l'injection de culture sous la peau de l'oreille provoque en moins de 24 heures un véritable érysipèle, accusé par la rougeur intense et la vive sensibilité de l'organe, ainsi que par un œdème si considérable que l'animal est incapable de relever et

même de remuer l'oreille qui pend lourdement. Mais ces phénomènes inquiétants se dissipent promptement ; l'œdème se résorbe en quelques jours et dans les cas les plus graves, un lambeau de peau plus ou moins étendu se mortifie et se détache sous forme d'une plaque mince sèche, plissée, ayant la consistance du parchemin.

PREISZ (1894) et SIVORI (1899-1912) ont également noté la formation d'un abcès local, avec foyer nécrotique, chez le lapin, après injection de culture sous la peau.

Si nous avons rapporté la description de NOCARD, c'est que nous avons fait des constatations absolument analogues, en injectant 1/10 de cg. de bacilles sous la peau de l'oreille. Nous avons constaté en outre une hypertrophie des ganglions du cou et de l'entrée de la poitrine.

Avec 1/100 de cg., la réaction locale est moins accusée.

Avec 1/10 de cg. injecté sous la peau du dos, on note un léger œdème après 24 heures, œdème qui devient douloureux les jours suivants. Un abcès volumineux évolue peu à peu pour s'ulcérer ensuite ; l'ulcère peut persister pendant plus d'un mois. La cicatrisation est beaucoup plus longue que chez le cobaye, mais la voie sous-cutanée n'est pas mortelle chez le lapin. Il faudrait sans doute atteindre des doses élevées qui amèneraient un délabrement considérable, car avec 1/5 de cg. nous avons obtenu de volumineux abcès (gros comme un œuf de poule) persistant trois mois après l'injection.

2°. — Voie intra-dermique.

L'injection de 10⁻² cg. dans la peau de l'oreille ou du dos provoque la formation d'une petite escharre, en quelques jours, qui s'élimine en formant une plaie ulcérée qui cicatrise vers le 15^e jour,

Avec 1/10 cg. on note de l'œdème, le lendemain de l'injection, puis la formation rapide d'une escharre noirâtre, circonscrite par un bourrelet rouge-vineux (dimensions d'une pièce de 2 francs). Vers le 15^e jour, la croûte desséchée tombe et il reste une plaie ulcérée qui ne cicatrise qu'au bout d'un mois.

Avec des doses plus élevées, 1/5 et 1/2 cg. la réaction est beaucoup plus violente, et la cicatrisation demande plusieurs mois.

Dans un cas, une injection intraveineuse fut poussée par inadvertance dans le derme de l'oreille (près d'1 cg. de corps microbiens). Il en résulta une escharre volumineuse qui s'accompagna, par la suite, d'une chute de toute l'extrémité supérieure du pavillon auriculaire du lapin, dont l'état général, d'ailleurs, se ressentit peu de cet incident.

3°. Voie intrapéritonéale

D'après NOCARD (1897) l'inoculation intrapéritonéale de culture ou de pus provoque chez le lapin, une suppuration épaisse, grumeleuse, riche en amas microbiens, qui le plus souvent, reste localisée,

s'enkyste et semble n'exercer aucune influence sur l'état général du sujet.

Avec des doses élevées de cultures, SIVORI obtient la mort du lapin en 24-48 heures (1912).

D'après nos expériences, la dose de 1 cg. dans le péritoine, tue le lapin en 24 heures. La dose de 1/2 cg. n'est mortelle qu'en 13 jours. La dose de 1/4 cg. n'est pas mortelle.

A l'autopsie des lapins ayant succombé, on note une forte congestion de la séreuse péritonéale qui est parsemée de suffusions sanguines ; l'exsudat péritonéal est louche et renferme quelques amas purulents. Ensemencé, il donne une culture pure de bacilles de Preisz-Nocard.

4°) Voie intraveineuse

Pour NOCARD, l'injection dans la veine de l'oreille du lapin, d'une petite quantité de pus ou de culture ne provoque pas de troubles apparents ; cependant, l'animal maigrit progressivement et il meurt cachectique en 15-30 jours, sans que l'autopsie révèle l'existence de lésions appréciables.

Avec une culture très virulente, injectée dans la veine, SIVORI constate la mort du lapin en 4 jours environ, avec de petits foyers caséux dans tous les viscères.

La dose de 1/4 de cg. d'après nos expériences, est toujours mortelle en 24 heures. La dose de 1/10 cg. par contre, suivant la virulence des souches, ne tue pas régulièrement le lapin.

A l'autopsie, aucune lésion n'est constatée. Dans un cas seulement, l'ensemencement du sang du cœur fut positif.

5°) Voie intramusculaire

L'émulsion microbienne est injectée dans les muscles de la cuisse.

La dose de 1/2 cg. est mortelle en 24 heures avec mortification et forte congestion des muscles dans la région inoculée.

Les doses de 10^{-1} , 10^{-2} , et 10^{-3} provoquent un gros abcès local, avec ulcération et cicatrisation d'autant plus longue que la dose est plus forte (plus de 2 mois avec 10^1).

6°) Voie digestive

Le lapin est peu sensible par la voie digestive. Il a fallu répéter plus de 10 fois, à quelques jours d'intervalle, la dose de 2 cg. de microbes pour arriver à le tuer.

A l'autopsie, légère congestion intestinale. Sur le poumon droit, abcès gros comme une noix renfermant du pus épais, dont l'ensemencement fournit une culture de bacilles de Preisz-Nocard.

7°) Voie intracérébrale (a)

Les doses de 1/2, 1/5 et 1/10 de mmg. de bacilles tuent le lapin par voie intracérébrale, en 24 heures.

La dose de 1/50 mmg. tue le lapin en 48 h. ; ce dernier présente le lendemain matin des crises épileptiformes puis de la paraplégie dans la soirée.

Dans tous les cas, le bacille de Preisz-Nocard fut retrouvé en culture pure dans le cerveau, et une fois, dans le sang du cœur.

8°) Voie intrarachidienne

L'émulsion microbienne est injectée dans le liquide céphalo-rachidien, après ponction au niveau de l'espace axoïdo-atloïdien.

La dose de 1/4 mmg. de bacilles est mortelle en 24 heures.

Avec 1/20 mmg. un lapin mourut en 24 heures, un autre en cinq jours, après avoir présenté de la paraplégie le troisième jour. (Dans ce dernier cas, une hémorragie se produisit lors de la ponction et a pu entraîner une partie de l'émulsion microbienne).

La dose de 1/50 mmg. est mortelle en 3 jours, avec paraplégie après 24 heures.

Dans tous les cas le bacille de Preisz-Nocard fut retrouvé en culture pure, dans le cerveau des animaux inoculés.

9°) Voie oculaire

La dose de 1/10 mmg. de bacilles, injectée dans la chambre antérieure de l'œil provoqué une kératite suppurée, puis la fonte purulente de l'œil, en une dizaine de jours.

La même dose déposée à la surface de la conjonctive provoque une kératite suppurée avec taie persistante.

III. Souris

1° Voie-sous-cutanée

D'après NOCARD (1897) la souris blanche inoculée sous la peau, succombe en 24, 36 ou 48 heures avec un abcès au point d'inoculation ; le sang du cœurensemencé sur sérum coagulé ou sur bouillon donne ordinairement des cultures typiques.

FONTAINE et MESPOULET (1913) en injectant une culture sous la peau d'une souris, constatent la mort de celle-ci en 24 36 heures.

Avec 1/2 cg. et 1/4 cg. injectés sous la peau, nous avons obtenu la mort des souris en 24 et 48 heures.

La dose de 10^{-1} tue la souris en quatre-six jours.

Celle de 10^{-2} tue la souris en 8 jours.

Celle de 10^{-3} tue la souris en 15 jours.

Celle de 10^{-4} n'est pas mortelle.

(a) Les expériences d'inoculation par voies intracérébrale, intrarachidienne et oculaire ont été réalisées en collaboration avec A. URBAIN,

Il y a toujours formation d'un abcès local, et dans un cas, nous avons trouvé à l'autopsie, de petits abcès miliaires du foie, avec bacilles de Preisz-Nocard dans le pus de ces abcès.

2° Voie cutanée

Fontaine et Mespoulet n'ont noté aucune lésion en déposant un peu de culture sur la peau de la souris.

Dans le derme, les doses de 10^{-2} et 10^{-4} de cg, sont mortelles en 24-48 heures.

La dose de 10^{-1} est mortelle en 4 jours

Celle de 10^{-2} — — en 6 jours

Celle de 10^{-3} — — en 14 jours;

Celle de 10^{-4} n'est pas mortelle.

Il y a formation d'une escharre locale noirâtre ; et dans un cas, le foie présentait les mêmes lésions qu'à la suite de l'injection sous-cutanée.

3° Voie intra-péritonéale

En déposant 1 à 2 gouttes d'eau de condensation d'une culture du bacille sur gélose, dans le péritoine de la souris, Preisz (1894) constate la mort de celle-ci en 10 jours, avec nodules pseudo-tuberculeux dans les divers viscères.

La souris nous a semblé très sensible à l'inoculation intrapéritonéale. Les doses de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} sont mortelles en 24 heures. Celles de 10^{-4} sont mortelles en 3 à 6 jours.

A l'autopsie, on note de la congestion péritonéale et dans un cas, l'ensemencement du sang du cœur nous donna une culture pure du bacille inoculé.

4° Voie intra-veineuse

Cette voie est également très sévère pour la souris.

La dose de 10^{-1} est mortelle en 24 heures, celles de 10^{-2} et 10^{-3} en 48 heures, celle de 10^{-4} en 4 jours. Dans deux cas, l'ensemencement du sang du cœur fournit une culture pure de bacille de Preisz-Nocard.

5° Voie digestive

Nous avons nourri quotidiennement des souris avec du pain imbibé d'une émulsion microbienne contenant 1 cg. de bacilles. Une souris sur deux succomba en 12 jours. Elle présentait à l'autopsie de l'ictère généralisé, un foie et une rate hypertrophiés, (cette dernière ayant un volume triple du volume normal) et parsemés de petits tubercules miliaires, renfermant du bacille de Preisz-Nocard. Les ganglions de l'aîne, mésentériques et médiastinaux étaient hypertrophiés. Les poumons étaient sains.

IV. Rat blanc

SIVORI (1899) est un des rares auteurs ayant utilisé cet animal comme sujet d'expériences. Il a constaté que l'injection sous-cutanée provoquait un abcès local et quelquefois la mort avec des abcès viscéraux (rein en particulier).

Des raisons matérielles ne nous ont pas permis d'utiliser le rat blanc.

V. Poule et pigeon

NOCARD (1897) constate que les poules supportent sans trouble l'injection sous-cutanée, intrapéritonéale ou intraveineuse, de grandes quantités de culture ou de dilution purulente.

L'injection intraveineuse tue parfois le pigeon en 4-6 jours, mais bien que l'ensemencement du sang reproduise la culture originelle, l'autopsie ne montre aucune lésion appréciable. L'inoculation dans les muscles ou dans le péritoine reste sans effets, de même, l'injection sous-cutanée de culture (SIVORI-1899).

Mademoiselle LE SOUDIER et VERGE (1924) constatent que l'inoculation intraveineuse ou le badigeonnage de la cavité buccale n'entraînent aucun trouble chez la poule.

VI. Chien

D'après SIVORI (1899) l'injection sous-cutanée de culture provoque un abcès local sans réaction générale.

Suivant CARPANO (1931) l'injection sous-cutanée de culture provoque un volumineux abcès local, avec forte hyperthermie. L'injection intraveineuse n'est pas mortelle.

D'après nos expériences, la dose de 1/10 de cg. de bacilles, par voie sous-cutanée, provoque chez le chien, un abcès local qui s'ouvre en 4-5 jours, et cicatrise lentement. Cette réaction locale s'accompagne d'hyperthermie qui cesse dès l'ouverture de l'abcès.

La dose de 1 cg. tue le chien en 11 jours par voie intraveineuse. Une hyperthermie (39-40°) est notée jusqu'à la mort. Le bacille est retrouvé en culture pure dans le sang du cœur.

VII. — Mouton et chèvre

En injectant sous la peau du mouton une culture peu virulente, SIVORI (1899) a constaté la formation d'un gros abcès local. Si la culture est très virulente, son injection entraîne la mort sans généralisations. Dans le péritoine, l'injection d'une culture virulente provoque une mort rapide, avec des lésions de pleuro-pneumonie séro-fibrineuse. Si la culture est moins virulente, la mort est plus tardive et on reproduit la maladie naturelle.

Chez la chèvre, d'après SIVORI, l'inoculation sous-cutanée est suivie d'un abcès local sans réaction générale.

Suivant les expériences de CARRÉ et BIGOTEAU (1908) l'inoculation sous la peau du mouton, d'une trace de culture, est suivie de l'apparition d'une petite nodosité dure, arrondie, sans tendance à s'ouvrir à l'extérieur. Bientôt, autour de cette première nodosité, et à une distance variable d'elle, on constate d'autres petits foyers indurés, identiques ; puis, dans les semaines qui suivent, des abcès apparaissent aux endroits d'élection signalés dans l'affection naturelle. Ces abcès s'ouvrent spontanément, se vident et se cicatrisent. D'autres apparaissent dans la suite qui évoluent suivant le même mode.

CARRÉ et BIGOTEAU ont également noté que l'injection dans un trayon, chez la chèvre, d'une ôse de culture sur gélose, délayée dans 2 cc. d'eau physiologique, n'est suivie d'aucune réaction locale immédiate. Mais 13 jours après, un abcès (dont le pus est riche en bacilles de Preisz-Nocard) apparaît au niveau de la parotide gauche. Le quartier inoculé augmente bientôt de volume ; il devient dur, tendu. Son parenchyme sclérosé contient quelques petits abcès gros comme un pois et renfermant un pus jaune verdâtre épais, où le bacille est en abondance. L'état général de la chèvre fut toujours excellent.

D'après DESCAZEUX (1929) l'inoculation sous-cutanée de 1 cc. de culture en bouillon est suffisante pour tuer un agneau en 48 heures, avec formation d'un œdème gélatineux, au point d'injection. Si la mort est tardive, le sang peut fournir une hémoculture positive. L'inoculation sous-cutanée détermine parfois chez le mouton adulte un abcès, mais souvent il n'existe pas de lésions au point d'injection, et il se forme un abcès dans le ganglion le plus rapproché.

L'inoculation intrapéritonéale entraîne une péritonite suppurée rapidement mortelle. L'inoculation intra-pulmonaire provoque un abcès local, mais souvent une pleurésie qui emporte l'animal par toxémie. Enfin, l'inoculation intratesticulaire provoque un abcès avec orchite et vaginalite intense.

SEDDON (1929) a recherché expérimentalement à infecter par la voie buccale 5 moutons : 3 avec des cultures, 2 avec du pus. Deux des animaux ayant reçu les cultures, présentèrent des lésions typiques de la suppuration caséuse. l'un 50 jours après l'absorption des germes, l'autre après 29 jours. Un des deux moutons ayant reçu le pus, fut aussi infecté, présentant des adénites sous-maxillaires rétropharyngiennes et préscapulaires.

WOODRUFF et OXER (1929) ont expérimenté dans une propriété où la maladie naturelle était rare et sur de très jeunes agneaux (âgés de 1 à 10 jours), qui n'avaient pas encore pu être contaminés. Deux jeunes agneaux qui absorbèrent dans un peu de lait une dose élevée de cultures de bacilles de Preisz-Nocard ne présentèrent ultérieurement que des lésions du poumon et des ganglions bronchiques. Les agneaux, dont le moignon ombilical, — sec ou encore humide, — fut imbibé de cul-

ture, eurent des lésions caséeuses des ganglions préfémoraux et inguinaux superficiels.

Mais les plus gravement atteints furent les animaux expérimentalement infectés au niveau des blessures cutanées, notamment des plaies de castration ou de caudotomie : dans ces cas, des foyers purulents très graves se développèrent jusque dans les articulations. Lors de ces infections, les lésions apparaissent dans les trois mois.

LIGNIÈRES (1929) et CASSAMAGNAGHI (1930) ont montré, chacun séparément, que le simple dépôt de culture sur la peau intacte ou scarifiée du mouton pouvait reproduire la maladie et provoquer des adénites à bacilles de Preisz-Nocard.

CARNE, en 1932, a tenté d'infecter expérimentalement le mouton par la voie digestive avec du bacille de Preisz-Nocard. Pour éviter l'action du suc gastrique, les cultures étaient portées directement par la voie rectale dans l'intestin au moyen d'une sonde. Les animaux recevaient ainsi le contenu de 7 cultures sur gélose de l'agent de l'adénite caséeuse. Les moutons étaient ensuite sacrifiés au bout de 3 ou 6 semaines ; dans aucun cas, ils ne furent trouvés porteurs de lésions.

CARNE a recherché, ensuite, l'action de divers échantillons de suc gastrique de mouton sur le bacille de Preisz-Nocard. Le liquide gastrique stérilisé par filtration était réparti dans des tubes et on leur ajoutait des cultures du bacille. Des prélèvements étaient effectués à intervalles réguliers pendant 2 h. 1/2 etensemencés sur boîte de Pétri. Certains échantillons avaient une action bactéricide, d'autres étaient complètement inactifs.

CARNE et ROSS (1931) dans le but de vérifier l'hypothèse que les parasites intestinaux peuvent créer une porte d'entrée à l'infection, ont administré en breuvage à 5 agneaux, à la fois des cultures de bacilles de Preisz-Nocard et des larves d'*Oesophagostomum columbianum*. Chez un seul mouton, un ganglion mésentérique et un ganglion préscapulaire présentent des lésions d'adénite caséeuse, bien que des lésions intestinales très marquées d'œsophagostomose soient observées. Il n'y a donc aucune relation entre l'infection vermineuse et l'infection par bacilles de Preisz-Nocard.

VIII. Cheval.

D'après NOCARD (1896) l'inoculation sous-cutanée du pus ou de la culture du microbe provoque chez le cheval, l'âne ou le mulet, un abcès chaud qui s'ouvre assez rapidement (6 à 10 jours), laissant écouler un pus épais et grumeleux ; la poche s'oblitére lentement, laissant une cicatrice persistante ; là se borne « ordinairement » tout le mal.

Dans un cas cependant, (expérience du 25 septembre 1895), NOCARD a obtenu une lymphangite ulcéreuse progressive, analogue à la maladie naturelle, (avec deux boutons ulcérés et collection purulente de ganglions de l'aîne), en injectant quelques gouttes de culture récente dans une « tumeur sanguine » créée artificiellement en dilacérant les

tissus sous-cutanés, sur la face interne du membre, un peu au-dessus du jarret.

L'injection intraveineuse de dilution purulente ou de culture, reste sans effet chez les équidés. A peine note-t-on un peu de fièvre dans les 24 heures qui suivent l'injection (NOCARD). BOQUET (1920) a pu injecter impunément dans la veine du cheval 1 cc. et 2 cc., 5 de culture en bouillon. La dose de 5 cc. fut mortelle.

NOCARD (1899) a reproduit expérimentalement chez deux chevaux, la dermite pustuleuse. Sur la région tondue à la base du garrot, il appliqua une pommade obtenue en mélangeant une anse de culture de bacilles à 5 gr. de lanoline. Dès le quatrième jour, des pustules apparurent, identiques à celles observées dans la dermite pustuleuse naturelle.

FONTAINE et MESPOULET (1913) ont également reproduit expérimentalement la dermite pustuleuse chez le cheval, en frottant la peau, même non rasée, soit avec du pus, soit avec des cultures. Les résultats sont meilleurs si l'on pratique des scarifications. La maladie expérimentale évolue au bout de 2 à 4 jours.

En injectant sous la peau de l'encolure d'un poulain, 20 cc. d'une culture en bouillon, CARRÉ et BIGOTEAU (1906) constatent l'apparition d'un volumineux engorgement, qui s'étend au membre du côté injecté, qui est soustrait à l'appui. Puis un gros abcès évolue, accompagné d'inappétence et d'hyperthermie.

En 1918, WATSON assure avoir obtenu des résultats positifs (reproduction de la lymphangite ulcéreuse naturelle), en inoculant, au cheval, sous la peau du paturon une souche de bacilles de Preisz-Nocard, isolée d'un foyer purulent du rein.

Le Centre de Recherches de l'Ecole d'Alfort, (1917-1919) fit les expériences suivantes :

1°) 3 chevaux reçurent, sous la peau, 1 cc. d'une culture jeune (48 heures) en bouillon ordinaire, l'un à l'encolure, les 2 autres au pli du paturon. Il en résulta un abcès volumineux, avec élimination d'un bourbillon, mais sans apparence de lymphangite persistante. Cependant, chez l'un des sujets, guéri en apparence, on put constater, le 32^e jour, la formation de 3 ulcères au pli du paturon, au voisinage du point d'inoculation. Un quatrième apparut le 40^e jour, sans tendance à la cicatrisation.

2°) 5 chevaux ont été inoculés au niveau du pli du paturon antérieur gauche.

Le 1^{er} et le 2^e sujets ont reçu respectivement 1/5^e de cc. et 1 cc. de culture jeune en bouillon diluée au 1/10^e et mélangée à de la poudre de charbon.

Le 3^e a reçu 4 cc. de la même culture diluée dans une solution d'acide lactique à 1 %.

Le 4^e a reçu 1 cc. d'une dilution de culture au 1/10^e dans de l'huile de vaseline.

Le 5^e a reçu 1 cc. d'une anse de culture diluée dans 10 cc. d'eau physiologique.

Les deux premiers chevaux ont présenté un volumineux engorgement qui s'est abcédé au bout de quatre jours en laissant une plaie ulcéreuse. Une lymphangite a évolué chez celui des deux sujets qui avait reçu la plus faible dose de culture. L'inoculation de culture diluée dans de l'huile de vaseline a entraîné l'élimination d'un sphacèle et la production d'un ulcère.

L'injection de culture mélangée à une solution d'acide lactique n'a donné qu'un engorgement. Les expériences précédentes effectuées au mois d'Août ont été reprises en Novembre avec des doses infinitésimales de culture de Preisz-Nocard additionnées de poudre de charbon. Elles ont permis d'obtenir la reproduction de la maladie avec abcès à répétition. Les premiers abcès sont apparus le 34^e jour après l'inoculation.

La poussière de charbon joue donc un rôle chimiotactique négatif rempli, en cas d'infection naturelle, par les boues, les poussières ou les germes banaux.

BOQUET en 1918, injecte à 2 chevaux neufs, sous la peau du paturon antérieur, 1 cc. de culture en bouillon de bacilles de Preisz-Nocard et 1/2 cc. à un 3^e cheval (au paturon postérieur); 24 heures après, il constate un œdème local, puis la formation d'un abcès qui s'ouvre le 5^e jour, donnant un pus riche en bacilles de Preisz-Nocard; la plaie se transforme en un ulcère typique puis se cicatrise en 5-6 semaines, sans généralisations.

Avec des doses fortes (1 cc. d'une émulsion obtenue en diluant une anse de culture sur gélose, dans 2 à 5 cc. d'eau physiologique), injectées sous la peau, BOQUET reproduit une véritable lymphangite et des ulcères comparables à la maladie naturelle, mais du type aigu qui est relativement rare.

Avec des doses faibles (1 cc. d'une émulsion obtenue en diluant 1 anse de culture sur gélose dans 1000 cc. d'eau physiologique, ou dans 50 cc. d'eau physiologique + 50 cc. de filtrat, sur bougie Chamberland d'une culture en bouillon Martin de 25 jours), BOQUET arrive à reproduire la maladie naturelle, sous sa forme chronique, avec une période d'incubation pouvant dépasser deux mois.

En 1920, WATSON expose le résultat de ses nouvelles expériences :

Chez six chevaux présentant des traumatismes légers, les plaies sont recouvertes de pus renfermant du bacille de Preisz-Nocard; l'un d'eux manifeste les premiers signes de l'infection 25 jours après.

En créant artificiellement une petite plaie et en la recouvrant de pus bacillaire, WATSON reproduit l'affection chez 3 des 4 chevaux soumis à ce mode d'inoculation. Les ulcères se sont manifestés 7, 14, et 24 jours après.

IX. — Vache et porc. Singes

DIECKERHOFF et GRAWITZ (1899) reproduisent chez la vache une éruption pustuleuse, par inoculation cutanée de bacilles isolés dans le pus de la dermite pustuleuse du cheval.

CARRÉ et BIGOTEAU (1908) injectent sous la peau d'une vache 2 cc. d'une culture en bouillon âgée de 8 jours. Il se forme un très petit engorgement qui disparaît peu à peu sans occasionner d'abcès. Une réaction thermique très nette est observée le 3^e Jour.

Les mêmes auteurs ne constatent aucune réaction chez un verrat ayant reçu 5 cc. de culture dans le muscle.

Enfin, ils inoculent un singe, (*Macacus rhesus*) avec 1 cc. de culture sous la peau : l'animal présente de l'anorexie et de l'inappétence pendant quelques jours ; un abcès se forme au point d'injection puis s'ouvre spontanément, laissant une plaie assez longue à cicatriser.

(C) Conservation de la virulence

Au cours de nos expériences, entreprises avec A. URBAIN et M. VALLÉE (1930) sur la vitalité du bacille de Preisz-Nocard, nous avons inoculé certaines souches à des cobayes (une ôse de voile en bouillon dans 2 cc. d'eau physiologique, par voie intrapéritonéale), soit en utilisant des cultures provenant d'échantillons de pus conservé au Laboratoire, au soleil ou à l'obscurité, soit en utilisant des vieilles cultures en bouillon.

Voici le résultat de nos expériences :

Pus « Roi de Pique » prélevé le 6 novembre 1929.

— conservé au Laboratoire : Orchi-vaginalite mortelle chez un cobaye injecté le 19 mai 1930.

— exposé au soleil en Mai 1930 : Orchi-vaginalite mortelle chez un cobaye injecté le 25 Novembre 1930.

Pus « Médoc » prélevé le 19 Octobre 1929.

Résultats superposables au précédent.

Pus « Qui m'aime » prélevé le 3 Octobre 1929.

-- conservé à l'obscurité au Laboratoire : Orchi-vaginalite chez un cobaye injecté le 16 Mai 1930.

Pus « Loulou » prélevé le 15 mai 1930.

— Conservé à l'obscurité au Laboratoire : Orchi-vaginalite mortelle chez un cobaye, injecté le 25 Novembre 1930.

Culture en bouillon « Uranus » du 21 octobre 1930 :

— Orchi-vaginalite mortelle chez un cobaye injecté le 18 juillet 1931.

Culture en bouillon « Mignonne » du 1^{er} février 1932 : tue un co-

baye injecté le 29 décembre 1932, en 48 heures, avec congestion péritonéale et début de vaginalite.

Culture en bouillon « Qui m'aime » du 8 mai 1931 : produit une orchite caractéristique, par injection au cobaye le 24 juin 1932.

Cultures en bouillon « Médoc » et « Uranus » du 21 Octobre 1930 déterminent une orchite chez le cobaye, le 21 juillet 1931.

Ces expériences nous montrent donc que le bacille de Preisz-Nocard peut conserver non seulement sa vitalité mais encore sa virulence, soit dans du pus conservé à l'obscurité (pendant 6-7 mois), soit dans du pus desséché au soleil (jusqu'à 12 mois), soit enfin dans des cultures en bouillon (9 et 10 mois et même 412 jours).

Cette conservation de la virulence mérite d'être retenue au point de vue pratique, en ce qui concerne la prophylaxie de la lymphangite ulcéreuse.

(D) Atténuation et augmentation de la virulence

Si la virulence du bacille de Preisz-Nocard est variable suivant la souche isolée (ce que nous avons mis en évidence en étudiant le pouvoir pathogène essentiel), la virulence d'une souche donnée varie peu (vieillesse, passages sur divers milieux ou par le cobaye).

Plusieurs souches utilisées après un certain nombre de passages sur divers milieux de culture (bouillon Martin, gélose ou sérum coagulé), conservent toujours le même degré de virulence. Cette virulence ne varie pas, pour une même souche conservée en bouillon Martin, pendant près de trois mois. Passé ce délai, la virulence semble s'atténuer. Il suffit alors d'injecter avec cette souche un cobaye mâle par voie intrapéritonéale, et de réensemencer le pus de l'orchite obtenue, pour avoir une nouvelle souche de virulence égale à celle de la souche primitive, lors de son isolement.

Si le passage par cobayes permet de récupérer la virulence primitive, il ne permet pas de l'exalter beaucoup. SIVORI (1899), a signalé une légère augmentation de la virulence par passages chez le cobaye.

Nous avons effectué jusqu'à 8 passages chez le cobaye par voie intrapéritonéale, sans arriver à augmenter beaucoup la virulence.

Nous sommes partis d'une souche ne tuant pas le cobaye mâle au $1/10^{\circ}$ de cg., par voie intrapéritonéale, mais mortelle en 9 jours au $1,5$ de cg. Après le 3^e passage par le péritoine du cobaye, la souche tua le cobaye au $1/5$ de cg. en 48 heures. Ce n'est qu'au 6^e passage qu'elle réussit à tuer le cobaye en trois jours, avec $1/10$ de cg. Mais la dose de $1/100^{\circ}$ de cg. ne fut jamais mortelle, tout en entraînant cependant, des phénomènes génitaux, ce qui nous permit de réaliser un 7^e et 8^e passage sans constater une nouvelle augmentation de virulence.

CHAPITRE VIII

Eléments filtrables du bacille de Preisz Nocard

En 1923, CARRÉ est frappé par la diversité des lésions produites par le bacille de Preisz-Nocard qui semble adopter un organe ou deux, à l'exclusion des autres : par exemple, ganglions médiastinaux chez les agneaux, foie, articulations, cerveau, œil..... Il émet l'hypothèse, soit d'une adaptation propre du microbe, soit d'une intervention insoupçonnée d'un autre virus, incapable de créer des lésions appréciables, mais préparant le terrain à l'agent infectieux. Il rapproche ces faits de ceux qu'il a observés dans le « mal de Lure » ; le bacille spécifique se rencontre uniquement dans des lésions créées primitivement par le virus filtrable agalaxique, aussi se demande-t-il : « pourquoi ne pas penser à un virus filtrable du bacille de Preisz-Nocard ».

En 1929, LIGNIÈRES constate que ce bacille possède des éléments filtrables traversant toujours les bougies Chamberland L1, fréquemment les bougies L2 mais jamais les bougies L3. D'après lui, ce serait les formes granuleuses du bacille, que présente le pus, qui sont filtrables.

En 1930 et 1932, CASSAMAGNAGHI fait des constatations analogues.

En collaboration avec A. URBAIN et M. VALLÉE (1930) nous avons entrepris plusieurs séries d'expériences concernant ces éléments filtrables en utilisant de nombreuses souches toutes virulentes et toxiques isolées au Laboratoire,

Dans une première série d'expériences, nous sommes partis soit de vieilles cultures en bouillon Martin de 25 à 30 jours, soit de jeunes cultures de deux jours ; nous avons utilisé des bougies Chamberland L2 soigneusement vérifiées (1), la filtration était effectuée sous une pression basse et en présence d'une culture abondante de *Pasteurella aviaire*. Quelques gouttes du filtrat obtenu étaient ensemencées dans du bouillon Martin ou sur gélose-sérum pour en vérifier la stérilité ; le reste du filtrat était laissé à la glacière un temps variable (15-20 jours) afin d'en atténuer la toxicité (2) ; puis, on inoculait 0,2 cc. de chaque

(1) Nous avons constaté dans des essais antérieurs que la filtration de ces cultures sur bougies Chamberland L3, donnait toujours des résultats négatifs.

(2) La toxicité du filtrat était vérifiée avant son emploi, en injectant 0,2 cc. de ce filtrat sous la peau de deux cobayes de 350 gr. : cette dose ne s'est jamais montrée toxique.

filtrat, dans le péritoine d'un cobaye et dans le derme de la patte postérieure gauche d'un autre cobaye (1).

Nous avons obtenu les résultats suivants :

Sur 24 cobayes inoculés avec les filtrats de douze vieilles cultures, de douze souches différentes de bacille de Preisz-Nocard, 3 sont morts d'une infection typique ; deux d'entre eux ont succombé en 14 jours, des suites d'une inoculation par la voie péritonéale, en présentant des bacilles caractéristiques dans la rate ; le parenchyme de cet organe a donné une culture de bacille de Preisz-Nocard. Le troisième est mort 59 jours après l'inoculation par la voie intradermique ; à l'autopsie on a trouvé une adénite caséuse de la grosseur d'un pois, au flanc gauche, une péritonite hémorragique, une forte congestion des testicules et un abcès de la grosseur d'un œuf de poule au niveau du foie (le pus de l'abcès et le suc testiculaire ont montré du bacille de Preisz-Nocard).

Sur 10 cobayes inoculés avec le filtrat de 5 cultures jeunes de 5 souches différentes de bacilles de Preisz-Nocard, 5 sont morts : quatre des suites d'inoculation intrapéritonéale (2 en 15 jours, 2 en 21 jours), un autre des suites de l'injection intradermique (en 14 jours). Tous ces animaux ont présenté des bacilles de Preisz-Nocard, dans leur rate qui était hypertrophiée ; un seul inoculé par voie péritonéale a montré une double orchio-vaginite dont le pus a fourni une culture pure de l'agent de la lymphangite ulcéreuse.

Dans cette expérience, le filtrat de quatre souches sur cinq étudiées a été susceptible de provoquer une infection chez le cobaye.

Dans une dernière série de recherches, nous avons essayé d'obtenir ces éléments filtrables en partant du pus provenant d'abcès de lymphangite ulcéreuse. Nous avons opéré de la façon suivante : une partie du pus est diluée dans neuf parties d'eau physiologique, cette émulsion est laissée douze heures à la température de la chambre, puis filtrée dans les conditions habituelles (2). La stérilité du filtrat est éprouvée par ensemencement sur bouillon Martin et gélose-sérum. On inocule ensuite des cobayes, dans les mêmes conditions que précédemment, c'est-à-dire, par la voie intradermique ou intrapéritonéale avec 0.2 cc. de filtrat. Nous avons opéré sur 6 pus d'origine différente. Sur 12 cobayes inoculés, un seul ayant reçu le filtrat par la voie péritonéale est mort au bout de 7 jours, en présentant une rate hypertrophiée ; le parenchyme de cet organe a montré du bacille de Preisz-Nocard.

Ces recherches tendent donc à prouver que le bacille de Preisz-Nocard, comme un certain nombre d'autres germes, peut posséder des éléments filtrables ; ceux-ci sont obtenus beaucoup plus facilement en partant de cultures jeunes que de cultures âgées ou du pus.

(1) On note dans les jours suivant cette injection une légère rougeur au point d'inoculation et un peu de raideur de la patte.

(2) Pour faciliter cette filtration, l'émulsion peut être soumise au préalable, pendant une heure, à une agitation mécanique, dans un tube de verre à paroi épaisse, muni de perles de verre.

CHAPITRE IX

La toxine du bacille de Preisz-Nocard

Quelques mots d'histoire

NOCARD (1896) constate que le microbe de la lymphangite ulcéreuse produit dans le bouillon deux espèces de produits toxiques, en petite quantité, dans les cultures régulières, un produit hypothermisant pour le cobaye et un autre hyperthermisant. Le premier est détruit par une température de 100°, l'autre résiste à cette température. NOCARD écrit : « Ordinairement, l'animal succombe à l'inoculation (d'une trace de culture dans le péritoine) en 24, 36, ou 48 heures, avec une hypothermie intense allant parfois au dessous de 30°. A l'autopsie, on trouve de la rougeur de l'intestin... Il n'existe pas de lésions viscérales ; la mort si rapide ne peut s'expliquer que par l'action des toxines sécrétées. »

SIVORI (1899) observe que le bacille de Preisz-Nocard cultivé en sac de collodion dans le péritoine du lapin, se développe, dans le liquide du sac, sous forme de petits grains, et que l'animal perd beaucoup de son poids et se cachectise. D'autre part, il pense que les pseudo-tubercules constatés chez les animaux d'expérience sont le résultat d'une leucocytose intense qui se produit là où sont les microbes ; les leucocytes sont rapidement tués « sans doute, par un produit toxique sécrété par le microbe. »

C'est à DASSONVILLE (1907) que revient le mérite d'avoir montré que le bacille de Preisz-Nocard sécrète une toxine très active, dont il donne une étude très complète, que nous analyserons en détail. Cette toxine « jouit des principales propriétés de la toxine diphtérique » mais ne s'identifie pas à cette dernière.

A la suite de ce remarquable travail, VALLÉE expose les premiers résultats des recherches de CARRÉ concernant la cachexie aqueuse des ovidés, attribuée par cet auteur à une toxémie provoquée par le bacille de la suppuration caséuse. BASSET confirme les expériences de DASSONVILLE.

CARRÉ et BIGOTEAU en 1908 apportent de nouveaux renseignements sur l'action de cette toxine chez le mouton.

En 1912, M. NICOLLE, LOISEAU et FORGEOT étudient les facteurs

de la toxicité du bacille de Preisz-Nocard. Enfin récemment, (1931), ROTTGARDT donne des précisions sur la préparation de la toxine.

Nous exposerons les recherches de ces divers auteurs au cours de notre étude de la toxine, entreprise en suivant le plan même de DASSONVILLE, auquel nous ajouterons le chapitre de la floculation.

I. — *Préparation de la toxine.*

II. — *Action pathogène*, cobaye, lapin, souris, chien, chat, mouton, bœuf et cheval.

III. — *Modifications de l'activité de la toxine sous diverses influences :*

1° influence du milieu de préparation.

2° — du moment de la filtration.

3° Influence du vieillissement.

4° — de l'ancienneté des souches et passages par le cobaye

5° Influence de la chaleur.

6° — des antiseptiques.

7° — de diverses bactéries.

8° — du sérum normal, du sérum antidiphthérique et du sérum anti-Preis-Nocard.

IV. — *Pouvoir floculant.*

V. — *Nature de la toxine.*

I. — Préparation de la toxine

DASSONVILLE (1907) ensemence le bacille de Preisz-Nocard en bouillon Martin stérilisé par filtration et réparti en couche mince, puis le filtre sur bougie, au bout de quinze jours à trois semaines d'étuve. Le filtrat est fortement alcalin (titre alcalimétrique : 4 à 5 gr. de soude par litre).

Pour CARRÉ et BIGOTEAU (1908), le meilleur milieu pour l'obtention d'une toxine active est le bouillon à 2 % de peptone ; dès le 5^e ou le 6^e jour, la toxicité paraît à son maximum. La toxine est obtenue en filtrant la culture sur plusieurs doubles de papier Chardin, ou sur une bougie Berkfeld très poreuse. (Cette toxine peut également être obtenue dans des cultures sous le vide).

NICOLLE, LOISEAU et FORGEOT (1912) obtiennent la toxine en utilisant le milieu préparé de la manière suivante : on mêle de la viande de cheval hachée avec le double de son poids d'eau ; on porte cinq minutes à l'ébullition, on filtre sur papier et on additionne, parties égales, le filtrat de bouillon, de peptone liquide (panse de porc) ; on alcalinise franchement ; on chauffe à 120° ; on répartit en ballons ; on stérilise à 115°. Ce milieu ensemencé est filtré après 7 jours d'étuve, sur bougie.

SIVORI (1912) prépare la toxine en filtrant sur quatre épaisseurs de papier filtre, après 4 ou 5 jours d'étuve, des cultures sur bouillon peptoné à 2 %.

DESCAZEUX (1929) constate que les toxines les plus actives sont

celles obtenues dans les cultures en bouillon Martin additionné de sérum de mouton, ayant 24 à 48 heures d'étuve. Les cultures plus âgées se sont montrées nettement moins actives.

ROTTGARDT (1931) recommande d'utiliser du bouillon de bœuf plus 2 % de peptone, ou du bouillon Martin, de pH 7,4 à 7,8. La culture est conservée à 26-30°, en favorisant le libre accès de l'air. Elle est filtrée sur papier puis centrifugée. Ce même auteur prépare une toxine active et stable par précipitation au $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ saturé et dessiccation dans le vide sulfurique.

Au début de nos expériences, nous avons régulièrement utilisé du bouillon Martin de pH : 7,7, réparti en flacons d'Erlenmeyer. Après ensemencement, la culture est portée à l'étuve à 37° puis filtrée le 7^e ou le 8^e jour, sur bougie Chamberland L3. Au cas où nous manquons de bougies, la culture est filtrée sur triple épaisseur de papier Chardin puis centrifugée (20 minutes environ, à 3.000 tours-minute).

Comme nous le verrons plus loin, nous avons été frappé par l'inconstance de la toxicité de nos souches et nous avons cherché à augmenter la valeur antigène toxique de ces dernières. Nous avons essayé, sans succès, d'ajouter au bouillon Martin, du sang défibriné de cheval, ou de mouton, du sérum frais de cheval. L'addition de glucose à raison de 2 % nous permet d'obtenir une toxine plus active.

Nous avons été très intéressé par les nombreux essais tentés par RAMON et BERTHELOT, LOISEAU et PHILIPPE etc... pour obtenir une toxine et une anatoxine diphtériques de valeur antigène intrinsèque élevée et récemment (Janvier 1933), RAMON a mis au point la technique de préparation suivante :

« A un litre d'eau, on ajoute 10 cc. d'acide chlorhydrique pur et 225 gr. de panse de porc fraîche et découpée en menus morceaux ; on porte au bain-marie à 45° ; lorsque la digestion pepsique est suffisamment amorcée, c'est-à-dire au bout de 2 heures environ, on ajoute 325 gr. de viande de veau finement hachée. On brasse fortement le mélange. Après 20 à 22 heures de digestion, celle-ci est arrêtée par un chauffage de 20 minutes à la température de 80 à 100°. On continue alors l'opération en passant le produit de la digestion sur une chausse. Le liquide étant recueilli, on l'alcalinise au moyen de lessive de soude pour l'amener à pH 8. On le chauffe ensuite à 100° pendant 20 minutes. On filtre sur papier. On répartit le bouillon ainsi obtenu dans des ballons à fond plat à raison de 1 litre par ballon et l'on stérilise à l'autoclave à 108°-110° pendant 45 minutes.

Le glucose, (1,5 à 2 gr. par litre de bouillon) est ajouté avant la stérilisation du bouillon et l'acétate de soude (5 à 10 gr. par litre) après (sous forme de solution stérilisée). »

M. RAMON a bien voulu, ce dont nous le remercions bien vivement, mettre à notre disposition du bouillon ainsi préparé et dans lequel nous avons ensemencé diverses souches de bacille de Preisz-Noëard. Nos expériences, sur l'action toxique et la floculation, relatées

plus loin, montrent que ce milieu permet la production d'une toxine active.

MARBE et ses collaborateurs DIMITRIU et STEFANESCO (1933) recommandent d'ajouter au bouillon Martin 1 gr.5 de glucose, 3 gr. de maltose, et 5 à 10 gr. d'acétate de soude par litre, pour obtenir une bonne toxine diphtérique. Ce milieu s'est également montré excellent pour préparer notre toxine de bacille de Preisz-Nocard. C'est le milieu que nous adoptons actuellement, en l'absence de bouillon préparé suivant la technique Ramon.

II. — Action pathogène

1° Cobaye.

D'après DASSONVILLE, 1/2 cc. de toxine tue fréquemment le cobaye adulte (500 gr) ; un centimètre cube tue toujours le cobaye en 24 heures. Nous citerons textuellement la description que DASSONVILLE a donné des manifestations observées chez le cobaye ayant reçu 1 cc. de toxine :

« Pendant les premières heures qui suivent l'injection de toxine, rien n'est changé dans les attitudes du cobaye. Cependant, la température s'élève et peut atteindre 40°.

Après une sorte de période d'incubation assez longue (20 heures environ) des troubles apparaissent : l'animal ne mange plus ; il se roule en boule, le poil hérissé et devient inattentif à ce qui l'entoure. La respiration devient oppressée, précipitée, haletante. On constate de la diarrhée. Le train postérieur s'affaisse, devient paralysé ; la paralysie progresse en avant. Le corps à ce moment est *froid* (température interne : 24°-22°) ; il a perdu le tiers, voire même la moitié du poids qu'il avait la veille. La mort survient une heure, ou deux, après l'apparition des premiers symptômes.

A l'autopsie : volumineux œdème blanc au point d'injection. Congestion très intense des viscères abdominaux : le gros intestin et l'intestin grêle sont très vascularisés, très congestionnés. *L'estomac est toujours très congestionné*. A la coupe, il sort des capsules surrénales un sang noir, poisseux, très abondant... »

Nous avons fait des observations toujours analogues à celle-ci, sauf sur deux points ; la paralysie du train postérieur a été rarement constatée et jamais nous n'avons trouvé les glandes surrénales congestionnées. Enfin, fréquemment, la période d'incubation est inférieure à 20 heures et peut n'atteindre que 10-12 heures. Quant à l'œdème constaté au point d'injection, il est souvent gélatineux (ressemblant à l'œdème charbonneux) ; dans le cas de mort tardive, il est rougeâtre et on note la formation d'une escharre humide, noirâtre.

CARRÉ et BIGOTEAU (1908) font des constatations semblables. La toxine injectée sous la peau peut tuer le cobaye à des doses de 1/10^e et de 1/20^e de centimètres cubes, en 18 heures.

Ils signalent chez le cobaye ayant succombé à l'injection de

toxine : un œdème rouge groseille du mésentère, au niveau de la petite courbure du gros côlon, une forte congestion des capsules surrénales, des reins et des poumons, une urine albumineuse.

La toxine préparée par NICOLLE, LOISEAU et FORGEOT (1912) tue le cobaye de 500 à 600 gr. en 12-24 heures, à des doses variant de 1 cc. à 1/10 cc. Voici le résumé des expériences de ces auteurs avec la *toxine soluble* :

1°. *Voie sous-cutanée*. — a) de 5 à 2 cc. : Au bout de la première demi-heure, *loco-laeso*, empatement rénitent, avec teinte saumonée des téguments ; puis maculature plus foncée, limitée par une zone lie de vin. Après 5-6 heures, placard à centre dénudé, luisant, humide, de coloration rouge-brune. Mort en 10-15 heures. La lésion locale a conservé son aspect humide central, mais est entourée d'une bordure noire, sèche.

b) de 2 cc. à 0 cc. 2 : lésion locale moins accentuée ; mort en 18-24 heures.

c) de 0 cc. 2 à 0 cc. 1 : en général : survie ; escharre humide (24 heures) ; escharre sèche (48 heures) ; période de réparation (chute de l'escharre et cicatrisation) en 8-10 jours.

A l'autopsie des cobayes morts : œdème local sous-cutané rosé ; congestion intense de l'estomac, gros intestin et reins. Pas de congestion des surrénales, ni épanchement intra-thoracique.

2° voie intraveineuse

Avec 5 cc. de toxine : mort en une heure et moins (embarras respiratoire et convulsions).

Avec 3 à 4 cc. de toxine : mort en quelques heures (phénomènes abdominaux, dyspnée).

Avec 2 cc. : mort en 12-18 heures.

Avec 1 cc. : mort en 24-36 heures.

Au dessous de 1 cc., survie avec émaciation transitoire.

NICOLLE, LOISEAU et FORGEOT ont recherché si le poison des bacilles était identique à celui des filtrats et quel était le degré et le mode de toxicité du bacille lui-même, c'est-à-dire de sa « *substance fondamentale* ».

Signalons, à ce propos, que d'après CARRÉ, les corps microbiens, même vivants, ne semblent pas renfermer une quantité appréciable de toxine. Le voile d'une culture en bouillon, filtrée sur papier, et recueilli, puis injecté au cobaye, ne provoque pas d'accidents toxiques immédiats, mais seulement un abcès local.

Pour éliminer la virulence des bacilles de Preisz-Nocard tout en conservant dans une mesure convenable, leur propriété toxique, NICOLLE, LOISEAU et FORGEOT se sont arrêtés à l'emploi de l'alcool-éther (ââ), prolongé pendant 24 heures et suivi de dessiccation (vide sulfuration). Voici le résumé de leurs expériences chez le cobaye soit avec des germes vivants, soit avec des germes tués par l'alcool-éther (bacilles Panisset).

1°. Voie sous cutanée :

a) *Germes vivants* : 1 cg. tue le cobaye en 24 heures ; avec des doses supérieures, mort en 12 heures : avec des doses inférieures, jusqu'à environ 1/10 cg. mort en 36-48 heures. Il n'y a pas de différences sensibles entre les effets de la toxine soluble et ceux des microbes vivants. Avec les doses inférieures à 1/10 cg. les « lésions toxiques » (escharre) diminuent au profit de l'infection qui se développe graduellement (ainsi que nous l'avons vu dans l'étude de l'action pathogène expérimentale).

b) *Germes tués par l'alcool-éther* : 2 à 3 cg. (= 15 à 10 cg. microbes frais) tuent le cobaye en 12-24 heures avec lésions et symptômes analogues à ceux provoqués par la toxine soluble.

Avec des doses non mortelles (de 1/2 à 1 cg.) l'évolution des lésions est moins brutale qu'avec la toxine soluble.

2°. — Voie intraveineuse

a) *Germes vivants* : 10 cg. tuent le cobaye en une heure et moins ; 5 cg. tuent le cobaye en quelques heures.

1 à 2 cg. tuent le cobaye en 12-18 heures.

Au dessous de cette dose, on ne note plus de symptômes toxiques, mais des signes d'infection, (voir précédemment),

b) *Germes tués par l'alcool-éther* : 3 cg. tuent le cobaye en 6-12 h., 1-2 cg. tuent le cobaye en 12-18 h, 0 cg. 5 tuent le cobaye en 24 h.

Mêmes symptômes qu'avec la toxine soluble.

En règle générale, la toxine obtenue sur bouillon Martin ordinaire ensemencé avec la plupart des souches que nous avons isolées, tue le cobaye de 4 à 500 gr. en 24 h. à la dose de 1 cc. et en 48 h. ou 3 jours avec 1/2 cc. par la voie sous-cutanée, avec escharre locale.

Pour quelques souches, la toxine ne tue qu'à la dose de 2 cc. 2cc, 5.

Nous avons également recherché le pouvoir toxique de nos souches après action de l'alcool éther et dessiccation. La grande majorité tue le cobaye en 24-36 heures, à la dose de 2 ou 3 cg. (poids sec) par voie sous-cutanée. Beaucoup tuent le cobaye à la dose de 1 cg. et certaines très actives à celle de 1/2 cg.

D'ailleurs toutes nos souches, sauf une, se sont montrées virulentes et toxiques.

CARRÉ et BIGOTEAU ont rencontré des souches absolument avirulentes et atoxiques et l'une d'elles a permis l'expérimentation de NICOLLE, LOISEAU et FORGEOT. Ces auteurs ont constaté que les bacilles de Preisz-Nocard vivants atoxiques étaient mieux résorbés que les bacilles diphtériques atoxiques, chez le cobaye, parce que leur substance fondamentale offre une plus grande décoagulabilité. L'action de l'alcool-éther, coagulant les bacilles de Preisz-Nocard, ramène leur substance fondamentale au niveau de celle des bacilles de Lœffler et dans ce cas, leurs effets sont analogues.

Cette décoagulabilité plus grande de la substance fondamentale des bacilles de Preisz-Nocard explique, que, par voie veineuse, il faut des doses de microbes moindres qu'avec le bacille diphtérique pour tuer le cobaye. Ainsi que nous le verrons plus loin, FORGEOT est revenu plus tard sur cette question (1930). BROcq-ROUSSEU et URBAIN (1925) ont été obligés d'examiner 10 souches équines pour en trouver une à la fois toxique et virulente. CAUCHEMEZ (1924) chez des moutons français, n'a pu isoler qu'une souche toxique sur six étudiées.

Par contre, chez les moutons frigorifiés provenant de République Argentine, toutes les souches isolées par CAUCHEMEZ et URBAIN (1926) ont été trouvées très virulentes et très toxiques.

ROTTGARDT (1931), sur plus de 100 souches isolées chez le mouton, et une dizaine chez le cheval, n'en a jamais rencontré une seule qui fut atoxique au moment de son isolement.

La *voie intradermique* chez le cobaye n'est guère plus sévère que la voie sous-cutanée comme voie d'inoculation de la toxine. Dans un cas cependant, une toxine ne tuant le cobaye qu'à la dose de 1 cc. sous la peau, le tua à la dose de 1/2 cc. dans le derme plantaire. Mais une toxine mortelle à la dose de 1/2 cc. sous la peau et le derme ne s'est pas montrée active même au 1/4 de cc. dans le derme. A dose égale, la mort n'est pas plus rapide par une voie que par l'autre.

La *voie intrapéritonéale* est un peu plus active que la voie sous-cutanée. Telle toxine ne tuant le cobaye qu'à la dose de 1 cc. sous la peau, le tue à celle de 1/2 cc. dans le péritoine. A dose égale, le cobaye recevant la toxine par voie péritonéale meurt quelques heures plus tôt que celui la recevant sous la peau.

La *voie intraveineuse* est moins sévère chez le cobaye que la voie sous-cutanée. Une toxine tuant cet animal au 1/2 cc. en 48 heures, sous la peau, ne le tue par voie veineuse (veine dorsale de la verge) que le 11^e jour, à la même dose. De nombreuses souches toxiques à la dose de 1 cc. de filtrat sous la peau, ne le sont pas par la veine, à la même dose.

Il nous a été impossible de tuer le cobaye avec la toxine par la *voie digestive*.

2°. — *Lapin*

POUR DASSONVILLE, le lapin est à peu près aussi sensible à la toxine que le cobaye. Pour CARRÉ et BIGOTEAU le lapin est très sensible à la toxine.

SIVORI a observé la mort du lapin en 40 heures après inoculation sous-cutanée de 1 cc. et 0,5 cc. de toxine (œdème mou au point d'injection).

Nous n'avons jamais réussi à tuer le lapin par voie sous-cutanée même avec 5 cc. de toxine sous la peau (toxine normale tuant le cobaye au centimètre cube). Il y a formation locale d'un large œdème, puis d'une escharre noirâtre atteignant les dimensions d'une pièce de 5

francs, cette escharre s'élimine laissant une plaie qui cicatrise vers le 15^e jour.

La toxine injectée *par la voie intradermique*, à la dose de 1 cc. entraîne une violente réaction locale, bien plus accusée que par la voie sous-cutanée. L'escharre persiste plus longtemps et la cicatrisation ne s'effectue qu'au bout d'un mois.

La dose de 1 cc. de toxine *dans la veine* tue le lapin en une quinzaine de jours, avec une forte congestion intestinale et un amaigrissement marqué (perte de poids atteignant 590 gr).

Dans le *péritoine*, la toxine tue le lapin en 10 heures à la dose de 5 cc. A la dose de 2 cc. 5, elle le tue en 14 jours, avec des signes analogues aux précédents, (congestion intestinale et amaigrissement).

La *voie cérébrale* et la *voie intrarachidienne* sont très sévères. (a)

Inoculée dans le cerveau, la toxine tue le lapin en 24 heures à la dose de 1/10 cc. et en 3 jours à la dose de 1/50 de cc. Dans ce dernier cas, le lapin présente des crises épileptiformes après 24 heures, et de la paralysie le deuxième jour.

Dans tous les cas, l'ensemencement du cerveau des animaux inoculés est resté stérile.

Le lapin résiste à la dose de 1/100 de cc. de toxine inoculée dans le cerveau.

La toxine injectée par voie intra-rachidienne tue le lapin en 24-36 heures à la dose de 1/10 cc. mais pas mortelle à la dose de 1/50 de cc.

La toxine injectée à la dose de 1/10 cc. dans la chambre antérieure de l'œil du lapin provoque une kératite suppurée avec une légère taie persistante.

La même dose déposée à la surface de la conjonctive provoque une kératite superficielle, qui disparaît en 8 jours.

3°. — *Souris*

La souris est rigoureusement réfractaire à la toxine (DASSONVILLE). Même avec 5 cc., nous n'avons jamais réussi à tuer la souris par voie sous-cutanée ou intrapéritonéale. La dose de 2 cc. ne tue pas la souris par voie veineuse.

4°. — *Chien et Chat*

D'après les expériences de DASSONVILLE, le chien et surtout le chat sont peu sensibles à la toxine. Ces animaux se sont montrés réfractaires pour CARRÉ et BIGOTEAU.

5°. — *Mouton*

Nous résumerons les expériences de CARRÉ et BIGOTEAU (1908) chez le mouton :

inoculation sous-cutanée	de 1 cc. de toxine	—	mort en 3 j. 1/2
—	intra-musculaire 1 cc.	—	mort en 2 j. 1/2
—	intra-mammaire 1 cc.	—	mort en 14 h.
—	intra-veineuse 1 cc.	—	mort en 6-8 h.

(a) expériences entreprises en collaboration avec A. URBAIN.

La toxine est inoffensive par la voie digestive, même à fortes doses et répétées.

A l'autopsie des animaux ayant succombé, les lésions constatées sont identiques à celles rencontrées chez les moutons succombant aux « eaux-rousses » : « épanchements intra-séreux plus ou moins hémorragiques, congestion violente et étendue de tout le tube digestif, de la caillette et de l'intestin principalement. Le myocarde est cuit, l'endocarde parsemé de pétéchies, le foie congestionné ou couleur feuille-morte. La rate est très généralement hypertrophiée ; son tissu est noir et mou ; les reins sont altérés ; l'urine fréquemment teintée par l'hémoglobine, est très albumineuse. La graisse de tout le cadavre est nettement ictérique ; le sang est pâle et décoloré ».

L'action de la toxine du bacille de Preisz-Nocard se fait sentir dans tout l'organisme mais le premier appareil impressionné est certainement l'appareil urinaire. CARRÉ et BIGOTEAU posent en principe que l'urine de tout animal tué par la toxine renferme de l'albumine.

Le Professeur MAZZINI (1910) de Turin, a constaté que des cultures de bacille de Preisz-Nocard en sacs de collodion, déposées dans le péritoine du mouton n'avaient aucune action toxique chez cet animal.

Pour DESCAZEUX (1929), il semble que dans l'infection naturelle du mouton, le bacille de Preisz-Nocard agit surtout par sa virulence propre, la contamination étant toujours peu importante dans la nature, et le système ganglionnaire agissant à la façon d'un filtre ? Cependant, il pense que les lésions d'ictère généralisée assez fréquentes chez les agneaux, sont des accidents toxiques dus à une infection plus abondante par les bacilles de Preisz-Nocard.

Nous signalerons, pour mémoire, que SIVORI (1912) attribue la « mancha » des ovidés en Argentine, à l'action toxique du bacille de Preisz-Nocard, opinion réfutée par QUEVEDO (1912). D'autre part, BIGOTEAU et BISSAUGE (1912) considèrent que certaines formes de paralysie infectieuse des agneaux sont dues à la toxine du bacille de Preisz-Nocard ; PELLETIER (1929) émet la même hypothèse.

6°. — Chèvre

D'après CARRÉ et BIGOTEAU, la chèvre est un peu plus résistante à l'action toxique du bacille de Preisz-Nocard que le mouton. D'ailleurs la souche isolée par ALTARA (1926) en Sardaigne, chez une chèvre ne donnait pas d'exotoxine.

7°. — Bœuf

L'injection sous-cutanée de quelques centimètres cubes de toxine, chez le bœuf, provoque un œdème local, étendu, chaud et sensible. (CARRÉ et BIGOTEAU).

8°. — Cheval

La même réaction locale est observée chez le cheval. Le cheval est d'ailleurs naturellement sensible à la toxine du bacille de Preisz-

Nocard. CARRÉ (1910) attribue à l'action de cette toxine, deux cas de congestion intestinale observés chez des chevaux chez qui le bacille spécifique put être mis en évidence (sang du cœur).

BASSET (1907) a également signalé le cas d'un cheval atteint de lymphangite ulcéreuse qui succomba sans lésions organiques suffisantes pour expliquer la mort qui doit être attribuée à l'action toxique du microbe.

Il injecta 100 cm de filtrat de culture sur bougie Berkfeld sous la peau d'un poulain de 18 mois. Cet animal mourut en 48 heures, avec un œdème énorme au point d'injection et une légère congestion généralisée.

Enfin, en 1917, LÉPINAY fait remarquer que les chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse sont plus maigres que ceux atteints de lymphangite cryptococcique, la première agissant par son action toxique.

III. Modifications de l'activité de la toxine sous diverses influences

1°) Influence du milieu de préparation de la toxine

Comme nous l'avons dit précédemment, nous avons modifié le milieu de préparation de la toxine, soit en ajoutant au bouillon Martin, du glucose (2 ‰), du sérum frais de cheval (10 ‰), du sang défibriné de cheval ou de mouton (5 ‰), puis nous avons comparé l'action pathogène de la toxine ainsi préparée, en l'injectant aux cobayes. Voici les résultats d'une de nos expériences :

1 cobaye (520 gr.) reçoit sous la peau 1/2 cc. de toxine sur bouillon Martin ordinaire : mort en 48 heures.

1 cobaye (510 gr.) reçoit sous la peau 1/2 cc. de toxine sur bouillon Martin additionné de sérum : survie.

1 cobaye (525 gr.) reçoit sous la peau 1/2 cc. de toxine sur bouillon Martin glucosé : mort en 48 heures.

1 cobaye (510 gr.) reçoit sous la peau 1/2 cc. de toxine sur bouillon sang : mort en 13 jours avec signes de paralysie le 7^e jour.

Donc l'addition de glucose au milieu de culture n'augmente pas la toxicité, l'addition de sang et de sérum l'atténue.

Voici les résultats que nous avons obtenus avec le bouillon préparé par RAMON, glucosé ou non, additionné ou non d'acétate de soude à 5 ou 10 ‰ (injections par voie sous-cutanée) :

Toxine souche n° 708 : (Bouillon Martin) tue le cobaye de 450 gr. en 24 heures, à la dose de 1/2 cc.

La toxine de cette soucheensemencée sur bouillon Ramon est mortelle en 18 heures.

Souche n° 784 : Toxine préparée en Bouillon Martin = 1/10 cc. : mort du cobaye en 36 h.

En bouillon Ramon = 1/10 de cc. : mort du cobaye en 24 h.

— — — Ramon glucosé = 1/10 cc. : mort en 18 h.

En bouillon Ramon glucosé + acétate de soude à 10 ‰ = 1/10 cc. : mort en 13 heures.

Souche cobaye 10 :

- Toxine préparée sur bouillon Martin = 1/10 cc. : survie du cobaye.
- Toxine préparée sur bouillon Ramon = 1/10 cc. : survie du cobaye.
- Toxine préparée sur bouillon Ramon glucosé = 1/10 cc. : mort du cobaye en 3 jours.
- Toxine préparée sur bouillon Ramon glucosé + acétate de soude à 5 ou 10 ‰ = 1/10 cc. : dans les deux cas mort du cobaye en 48 heures.
- Toxine préparée sur bouillon Martin glucosé à 1,5 % et maltosé à 3 p. ‰, 1/10 cc. : mort du cobaye en 48 heures.
- Toxine préparée sur bouillon Martin glucosé à 1,5 ‰ = 1/10 cc. : survie du cobaye.
- Toxine préparée sur bouillon Martin maltosé à 3 ‰ : 1/10 cc. : survie du cobaye.

Mêmes constatations avec la *souche St-Avoid* : non toxique à 1/10 de cc. sur bouillon Martin, elle tue le cobaye en 5 jours, sur bouillon Martin glucosé-maltosé.

Pour une même souche, l'activité de la toxine est donc nettement renforcée si l'on remplace le bouillon Martin ordinaire, soit par du bouillon Ramon, glucosé + acétate de soude, soit par du bouillon Martin glucosé-maltosé.

2° Influence du moment de la filtration :

Nous avonsensemencé sur bouillon Martin une souche peu toxique et après chaque jour d'étuve à 37°, nous avons filtré un peu de bouillon ; le filtrat est ensuite injecté sous la peau de cobaye ayant un poids moyen de 400 gr., à la dose de 1 et 2 cc. .

Après 24 heures :	2 cc. =	mort du cobaye en 12 jours.
	1 cc. =	— — — en 15 —
Après 48 heures :	2 cc. =	— — — en 3 jours
	1 cc. =	— — — en 10 —
Après 3 jours :	2 cc. =	— — — en 4 jours
	1 cc. =	— — — en 18 —
Après 4 jours :	2 cc. =	— — — en 3 jours
	1 cc. =	— — — en 22 —
Après 5 jours :	2 cc. =	— — — { 3 jours
	1 cc. =	— — — { 3 jours
Après 6 jours :	2 cc. =	— — — { 3 jours
	1 cc. =	— — — { 3 jours
Après 7 jours :	2 cc. =	— — — 36 heures
	1 cc. =	— — — 48 heures
Après 8 jours :	2 cc. =	— — — 24 heures
	1 cc. =	— — — 48 heures

Après 10 jours : 2 cc. = Mort du cobaye en 3 jours

1 cc. = — — — — —

Après 15 jours : 2 cc. = — — — — 24 jours

1 cc. = survie

Cette expérience nous montre que le moment le plus favorable pour filtrer le bouillon Martin, est le septième ou le huitième jour. Il en est de même pour le bouillon Ramon. Mais pour les bouillons sucrés, il vaut mieux attendre le 10^e jour : une toxine préparée sur ces milieux, mortelle en 48 heures le 8^e jour, tue le cobaye en 24-36 heures le 10^e jour.

Nous avons toujours filtré nos toxines sur bougie Chamberland L3. CARRÉ et BIGOTEAU ont constaté que la filtration sur bougie peu poreuse diminue sensiblement la toxicité.

3^o Influence du vieillissement

Pour CARRÉ et BIGOTEAU, la toxine, abandonnée à l'obscurité et à la température du laboratoire, conserve toute son activité *au moins* 1 mois.

D'après nos expériences, la toxine que nous avons préparée n'a pas cette stabilité : Après 4 ou 5 jours de conservation au Laboratoire, une toxine tuant le cobaye au 1 cc. ne le tue plus qu'avec 2 cc. ; après 15 jours, cette toxine est tout-à-fait inactive. A la glacière, son activité peut être conservée un peu plus longtemps (ROTTGARDT). Après 4 jours d'étuve, la toxine voit son activité diminuée, (n'est mortelle qu'à la dose de 4 cc.) ; elle devient inactive après 8 jours d'étuve. Ces constatations sont absolument analogues à celles faites par BROcq-ROUSSEU et URBAIN (1925).

4^o Influence de l'ancienneté des souches et passages par le cobaye

BASSET (1907) a remarqué que les cultures de bacilles de Preisz-Nocard qu'il étudiait perdaient rapidement leur toxicité, à tel point qu'un cobaye résistait à 10 cc. de filtrat sous la peau.

Lors de nos expériences sur la vitalité du bacille de Preisz-Nocard (en collaboration avec URBAIN et M. VALLÉE, 1930), nous avons, non seulement, recherché si la virulence était conservée mais également étudié la conservation de la toxicité.

Toutes les souches qui se sont montrées virulentes, se sont aussi montrées toxiques. Evidemment, cette toxicité est atténuée et telle souche tuant, à l'origine, le cobaye à la dose de 1 cc., ne le tue après 6 mois qu'à celle de 3 cc., et la mort est plus tardive.

CARRÉ a pu entretenir pendant plus de 4 ans, une souche (BIGOTEAU), en la repiquant tous les six jours, sans passages par l'animal, et constater qu'elle conservait sa virulence et sa toxicité.

Il résulte de nos expériences qu'une soucheensemencée sur bouillon Martin, conserve sa toxicité initiale pendant un mois environ ; mais après ce délai, sa toxicité s'atténue sans toutefois disparaître. Elle

ne disparaît qu'avec la mort de la souche. Ensemencée sur sérum coagulé la souche conserve sa toxicité initiale pendant près de deux mois. Pour éviter ces variations de toxicité pendant nos expériences difficiles, nous avons utilisé avec succès les passages par cobaye.

Exemple : Une souche, quelques jours après son isolement, sécrète une toxine tuant le cobaye au 1/2 cc.

Quelques mois plus tard, la toxine de cette souche conservée sur bouillon Martin, (toujours vivante, virulente et toxique), ne tue le cobaye qu'à la dose de 1,5 ou 2 cc. La souche est alors ensemencée sur bouillon Martin. Le lendemain, une ose de voile, diluée dans 2 cc. d'eau physiologique, est injectée dans le péritoine d'un cobaye mâle. Vers le 8 ou 10^{me} jour, on ensemence le pus de l'orchite provoquée. La nouvelle culture servira à préparer de la toxine : en général, il faut deux passages par le cobaye (suivant l'âge de la souche) pour obtenir une toxine aussi active que celle obtenue primitivement.

5°. *Influence de la chaleur.*

La toxine chauffée pendant 2 heures à 58° est inactive (DASSONVILLE). Elle est détruite en 1/4 d'heure à 70° et atténuée après 1/4 d'heure à 61° (CARRÉ et BIGOTEAU).

ROTTGARDT (1931) a également constaté l'extrême sensibilité de la toxine à la chaleur. Concentrée à 45° elle perd une grande partie de son activité, mais garde à peu près intacte sa valeur antigène et pyogène.

Nous avons montré précédemment l'action de la température de l'étuve (37°) sur la toxine.

D'après nos expériences, la toxine est détruite après chauffage de 1 heure à 55°-60°, de 30 minutes à 65° et de 15 minutes à 70°. Un chauffage de 1 heure à 45° l'atténue nettement.

6°. — *Influence des antiseptiques.*

DASSONVILLE a inactivé la toxine en l'acidifiant légèrement par addition d'acide lactique, tartrique, borique ou phénique. Mais cette toxine acidifiée peut récupérer une partie de son activité si on la rend à nouveau alcaline en l'additionnant d'une base.

D'après CARRÉ et BIGOTEAU, la liqueur de Gram détruit la toxine, à faibles doses.

BROCC-ROUSSEU et URBAIN (1925) ont traité la toxine par le formol à raison de 3p. 1000, puis l'ont laissée à l'étuve. Après 4 jours d'étuve, cette toxine qui tuait le cobaye à la dose de 1cc. sous la peau, en 36 heures, ne le tue plus, même à la dose de 5 cc.

D'après ROTTGARDT, le toluène, l'éther, l'alcool-éther, l'acide phénique n'ont aucune action sur la toxine, même à basse température. Le formol l'atténue plus ou moins rapidement suivant la température, mais la toxine formolée conserve sa valeur antigène.

7°. — *Influence de diverses bactéries*

URBAIN (1929) a recherché si la toxine du bacille de Preisz-Nocard ensemencée avec diverses bactéries se comportait comme des toxines tétaniques, diphtériques et botuliques, c'est-à-dire si sa toxicité était diminuée ou détruite sous l'influence de ces germes.

Il a utilisé à cet effet : *B. subtilis*, *B. coli*, *B. proteus*, *B. sporogenes*, du bacille pyocyanique et du bacille paratyphique *B.* Ces différents microbes ont été ensemencés abondamment dans des tubes de toxine (filtrat de culture en bouillon Martin de 8 jours) ; ceux-ci ont été laissés à l'étuve 10 jours, ainsi que deux tubes de toxine non ensemencés, dont l'un avait été soumis à l'action du vide et scellé ensuite. Après ce laps de temps, il a procédé au titrage de la toxicité de ces divers échantillons sur des cobayes de 450-500 gr. Voici les résultats qu'il a obtenus :

Toxine + *B. subtilis* ; inactive à la dose de 3 cc.

Toxine + *B. coli* : inactive à la dose de 3 cc.

Toxine + *B. proteus* : inactive à la dose de 3 cc.

Toxine + *B. sporogenes* ; inactive à la dose de 3 cc.

Toxine + Bacille paratyphique *B.* : inactive à la dose de 2 cc., tue le cobaye irrégulièrement avec 3 cc.

Toxine + Bacille pyocyanique : inactive à la dose de 3 cc.

Toxine témoin, en tube ouvert : active à la dose de 0,5 cc,

Toxine témoin, en tube scellé : active à la dose de 0,25 cc.

Ces recherches prouvent donc que, sous l'influence de certains germes, la toxine du bacille de Preisz-Nocard comme les toxines diphtériques, tétaniques et botuliques, est modifiée considérablement, puisque sa toxicité est complètement ou en partie détruite.

8°. — *Influence du sérum normal de cheval.
du sérum anti-diphtérique.
du sérum antitoxique naturel ou expérimental.*

a) *Sérum normal.* — Le sérum normal de cheval ne modifie pas l'activité de la toxine, (DASSONVILLE), NICOLLE, LOISEAU et FORGEOT d'une part, FORGEOT et CÉSARI (1912) d'autre part, ont fait les mêmes constatations aussi bien vis-à-vis de la toxine soluble, que vis-à-vis de doses mortelles de bacilles de Preisz-Nocard, tués par l'alcool-éther.

Nous-même avons eu l'occasion de vérifier ces faits fréquemment lors de contrôle de toxino-diagnostic. Parfois cependant, le cobaye ayant reçu du sérum normal puis éprouvé par la toxine, peut mourir avec une légère survie (ne dépassant pas quelques heures), par rapport au cobaye témoin non sérumisé.

b) *Sérum antidiphtérique.* — DASSONVILLE fit les expériences suivantes :

1°) des cobayes reçoivent sous la peau 1 cc. de toxine de bacille

de Preisz-Nocard (dose sûrement mortelle), préalablement mélangée in vitro à des doses variées de sérum antidiphthérique.

2°) Des cobayes reçoivent ce sérum sous la peau, puis 48 h. après, une dose mortelle de toxine.

3°) Des cobayes reçoivent en même temps du sérum (sous la peau d'une cuisse) et de la toxine (sous la peau de l'autre cuisse).

4°) Des cobayes reçoivent une dose mortelle de toxine, puis à titre curatif, de 2 heures en 2 heures, du sérum.

Tous les témoins et les cobayes ayant reçu 1/100 cc. de sérum antidiphthérique, meurent en 24 heures. Ceux qui ont reçu 1/10 cc. de sérum sont malades pendant quelques jours. Enfin, ceux ayant reçu 1 cc. de sérum ne manifestent aucun trouble.

Tous ces cobayes cependant, succombèrent en l'espace de 42 à 60 jours, sauf quelques-uns de ceux ayant reçu le sérum à titre curatif (4^e expérience).

DASSONVILLE conclut : « le sérum antidiphthérique paralyse l'action de la toxine du bacille de Preisz-Nocard ; il en retarde considérablement les effets, parfois d'une façon indéfinie ».

Nous rappellerons que dès 1901, NOCARD donna aux éleveurs irlandais le conseil de traiter leurs veaux atteints de « lung-disease » par le sérum antidiphthérique. VALLÉE (1907) a eu l'idée de traiter un cheval atteint de lymphangite ulcéreuse par des injections sous-cutanées de 40 à 50 cc. de sérum antidiphthérique, tous les 4 jours et par des applications locales sous forme de sérum desséché (cicatrisation des ulcères et arrêt de l'éclosion de nouvelles lésions).

NICOLLE, LOISEAU et FORGEOT ont constaté l'inefficacité absolue du sérum antidiphthérique contre la toxine du bacille de Preisz-Nocard, les bacilles toxiques ou atoxiques.

HAAN et AUGER (1917) ont utilisé sans succès le sérum antidiphthérique pour traiter des chevaux lymphangiteux.

Lors de notre stage à l'Ecole de Cavalerie de Saumur (1923), nous avons soigné un cheval atteint de lymphangite ulcéreuse de l'avant-bras gauche et nous nous souvenons n'avoir obtenu aucun résultat appréciable soit par l'injection sous-cutanée, soit par l'application locale de sérum antidiphthérique.

MAILLAND (1930) a traité 8 chevaux malades par des injections sous-cutanées répétées de 200 à 250 cc. de sérum antidiphthérique, 4 d'entre eux, guérissent ; l'état des 4 autres ne fut pas amélioré.

Nous verrons plus loin, dans l'étude de la sérothérapie, que ces résultats ne sauraient surprendre, car même des sérums spécifiques quoique antitoxiques n'ont aucune action sur la virulence même du bacille de Preisz-Nocard.

Sur les conseils du Vétérinaire Commandant URBAIN, qui a bien voulu nous communiquer le résultat des expériences qu'il a faites en 1923, nous avons répété plusieurs fois celles de DASSONVILLE, et nous verrons qu'elles les confirment tout-à-fait :

1°. — *Mélange in vitro de toxine de bacille de Preisz-Nocard et de sérum antidiphthérique ou de sérum normal :*

- a) Des cobayes reçoivent sous la peau :
- | | | |
|---|---|-----------------|
| 1 cc. toxine + 1 cc. sérum antidiphthérique | = | Survie |
| 1 cc. toxine + 0,1 — — — | : | + en 36 heures. |
| 1 cc. toxine (témoin) | : | + en 24 heures. |
- b) 2 cc. toxine + 1 cc. sérum antidiphthérique = Survie
- | | | |
|---------------------------------|---|--------------|
| 2 cc. toxine + 0,1 cc. — — | : | + 41 heures. |
| 2 cc. toxine + 1 cc. — normal : | | + 23 heures. |
| 2 cc. toxine (témoin) | : | + 19 heures. |
- c) 2 cc. toxine + 1 cc. sérum antidiphthérique : + 35 jours.
- | | | |
|-----------------------|---|------------|
| 2 cc. toxine (témoin) | : | 22 heures. |
|-----------------------|---|------------|
- d) 2 cc. toxine + 1 cc. sérum antidiphthérique = survie
- | | | |
|-------------------------------|---|--------------|
| 2 cc. toxine + 0,5 cc. — — | : | + 83 jours |
| 2 cc. toxine + 1 cc. — normal | | + 28 heures. |
| 2 cc. toxine (témoin) | | + 23 heures. |
- e) 2 cc. toxine + 1 cc. sérum antidiphthérique : + 3 mois
- | | | |
|--------------------------|---|-------------|
| 2 cc. — + 1 cc. — normal | | + 36 heures |
| 2 cc. — (témoin) | : | + 12 heures |

2°. — *Le sérum antidiphthérique est injecté 48 ou 24 heures avant la toxine ou simultanément :*

- a) un cobaye reçoit 2 cc. sérum antidiphthérique puis 48 heures après :
- | | | |
|--------------|---|------------|
| 1 cc. toxine | : | + en 48 h. |
|--------------|---|------------|
- a) Un cobaye reçoit 2 cc. sérum normal puis 48 h. après 1 cc. toxine :
- | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--------------|
| | | | | | + 24 heures. |
|--|--|--|--|--|--------------|
- b) — — — 1 cc. toxine (témoin) :
- | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--------------|
| | | | | | + 24 heures. |
|--|--|--|--|--|--------------|
- 2 cc. sérum antidiphthérique puis 48 h. après
- | | | |
|----------------|--|-------------|
| 1 cc. toxine : | | + 17 jours. |
|----------------|--|-------------|
- — — — — survie.
- | | | |
|--------------------------|--|--------------|
| — — — — — sérum normal — | | + 22 heures. |
|--------------------------|--|--------------|
- c) — — — 1 cc. toxine (témoin)
- | | | |
|--|--|--------------|
| | | + 12 heures. |
|--|--|--------------|
- 2 cc. sérum antidiphthérique et en même temps
- | | | |
|--------------|--|-------------|
| 2 cc. toxine | | + 10 jours. |
|--------------|--|-------------|
- — — 2 cc. sérum antidiphthérique puis 48 h. après
- | | | |
|--------------|--|-------------|
| 2 cc. toxine | | + 12 jours. |
|--------------|--|-------------|
- — — 2 cc. sérum normal puis 48 h. après
- | | | |
|--------------|--|------------|
| 2 cc. toxine | | + 3 jours. |
|--------------|--|------------|
- — — 2 cc. toxine témoin
- | | | |
|--|--|-------------|
| | | + 2 j. 1/2. |
|--|--|-------------|
- d) — — — 2 cc. sérum antidiphthérique puis 24 h. après
- | | | |
|-----------------|--|------------|
| 1/10 cc. toxine | | + 5 jours. |
|-----------------|--|------------|
- — — 2 cc. sérum normal puis 24 h. après
- | | | |
|-----------------|--|--------------|
| 1/10 cc. toxine | | + 36 heures. |
|-----------------|--|--------------|
- — — 1/10 cc. de toxine
- | | | |
|--|--|--------------|
| | | + 24 heures. |
|--|--|--------------|
- e) — — — 1 cc. 5 sérum antidiphthérique puis 24 h. après
- | | | |
|-----------------|--|------------|
| 1/10 cc. toxine | | + 3 jours. |
|-----------------|--|------------|
- — — 1/10 cc. toxine
- | | | |
|--|--|--------------|
| | | + 36 heures. |
|--|--|--------------|

Conclusions Dans trois expériences sur cinq, le sérum antidiphthérique à la dose de 1 cc, a inactivé une dose mortelle de toxine ; dans les deux autres cas, il l'a considérablement atténuée.

Dans un seul cas sur cinq, ce sérum a pu protéger efficacement le cobaye contre une dose mortelle de toxine, injectée soit 48 heures, 24 heures après, ou simultanément. Dans les autres cas, il retarde la mort.

Dans aucune expérience, le sérum normal n'a empêché l'action de la toxine (mort retardée seulement de quelques heures).

C) *Sérum « anti-Preisz-Nocard »*. — DASSONVILLE prévoyait que ce sérum devait être aisément réalisable.

CARRÉ (1910) a réussi à hyperimmuniser des chevaux contre la toxine ; le sérum de ces chevaux à la dose de 1 cc. protège le cobaye contre 3 cc. de toxine, soit près de 30 fois la dose mortelle.

NICOLLE, LOISEAU et FORGEOT ont fait agir le sérum obtenu par CARRÉ sur la toxine, les bacilles atoxiques et toxiques, (voie sous-cutanée), simultanément (à distance), par mélange et préventivement :

1° *Sérum à distance* (dans les muscles gastrocnémiens)

2 cc. de sérum protègent le cobaye contre 2 cc. de toxine soluble, contre 2 cg. de microbes alcool-éther ; ils empêchent la mort rapide (par intoxication) quand on injecte 2 cg. de germes vivants mais n'ont pas d'action sur l'infection ultérieure. L'action du sérum est nulle sur les bacilles atoxiques.

2° *Sérum par mélange* (1/2 heure de contact)

2 cc. de sérum neutralisent complètement 2 cc. de toxine soluble.

2 cc. de sérum neutralisent 2 cg. de germes alcool-éther.

2 cc. de sérum empêchent la mort rapide quand ils sont mélangés, à 2 cgr de germes vivants mais n'empêchent pas l'infection subséquente.

Le sérum mélangé à des germes atoxiques exagère volontiers l'empatement réactionnel.

3° *Sérum préventif* (la veille dans les muscles gastrocnémiens).

1 cc. de sérum protège le cobaye contre 2 cc. de toxine soluble ;

2 cc. de sérum neutralisent les effets de 2 cg. de germes alcool-éther et empêchent la mort rapide et l'escarre locale provoquée par 2 cg. de germes vivants, sans influencer sur l'infection ultérieure. Le sérum est sans action sur les germes atoxiques.

Le sérum Carré protège également le cobaye contre la toxine injectée par la voie veineuse :

Préventivement : 2 cc. de sérum empêchent la mort par 1 cc. de toxine soluble, par *mélange*, 1 cc. neutralise 1 cc. de toxine :

5 cc. de sérum (préventivement) et 2 cc. (par mélange) empêchent la mort rapide quand on injecte 5 cg. de germes vivants ; 3 cc. (préventivement) et 2 cc. (par mélange) neutralisent l'effet de 2 cc. de bacilles alcool-éther.

Préventivement et par mélange, le sérum n'a aucune action sur les germes atoxiques, vivants ou tués par l'alcool-éther.

NICOLLE, LOISEAU et FORGEOT ont fait des constatations absolument analogues avec le sérum des chevaux chroniquement infectés par le bacille de Preisz-Nocard, d'où la possibilité d'un toxino-diagnostic mis au point par FORGEOT et CÉSARI.

Chaque fois que nous avons pu nous procurer du sérum de chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse, nous avons pratiqué le toxino-diagnostic et cette méthode n'a jamais été en défaut, sauf dans un cas, mais la souche de bacille de Preisz-Nocard qui fut isolée était avirulente et atoxique. Nous avons non seulement éprouvé les cobayes avec des microbes tués par l'alcool-éther, mais aussi avec de la toxine liquide, en opérant comme avec le sérum antidiphthérique : soit en mélangeant in vitro toxine et sérum, soit en injectant le sérum 48 ou 24 heures avant la toxine, soit en injectant simultanément sérum et toxine en deux points différents. Dans tous les cas, le sérum de chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse protège le cobaye à la dose de 2 cc. contre l'inoculation de 2 à 3 doses minima mortelles de toxine.

Nous avons également utilisé du sérum de lapins hyperimmunisés contre le bacille de Preisz-Nocard. Nous indiquerons plus loin (chapitre des anticorps) comment nous avons procédé. Ce n'est qu'après de nombreuses injections que nous sommes arrivé à obtenir un sérum antitoxique.

Enfin, nous reviendrons sur la méthode du toxino-diagnostic lorsque nous traiterons la question du diagnostic expérimental.

Tous ces sérums nous ont permis d'entreprendre avec la collaboration de A. URBAIN (1932), des expériences sur le pouvoir flocculant de la toxine du bacille de Preisz-Nocard.

IV. Pouvoir flocculant

Nous nous sommes demandés si le phénomène de floculation si bien mis en évidence par RAMON dans le mélange de toxine diphtérique et de sérum antidiphthérique, pouvait apparaître aussi dans le mélange de toxine et de sérum anti-Preis-Nocard.

La recherche du phénomène de floculation a été effectuée suivant la technique décrite par RAMON ; dans un porte-tubes, on dispose un certain nombre de tubes à essais contenant chacun 20 cc. de toxine fraîchement préparée ; on ajoute dans chacun de ces tubes des quantités progressivement décroissantes : 4-3,5-3-2,5-2-1,5-1 cc. de sérum anti-Preis-Nocard. On mélange intimement la toxine et le sérum. Puis on examine de temps à autre les tubes laissés soit à la température du laboratoire, soit à l'étuve à 37° (dans ce dernier cas, le temps de floculation est parfois un peu plus court qu'à la température ordinaire). Peu à peu, le liquide de plusieurs des tubes devient opalescent et au bout d'un temps variable (de 3 à 8 heure dans nos expériences), cette opalescence se transforme peu à peu en floculation par l'agglomération des fines particules en flocons de plus en plus nets. La floculation apparaît nettement d'abord dans un seul tube, avant d'être observée

dans les tubes voisins ; nous avons noté ci-dessous la quantité de sérum antitoxique correspondant à cette « flocculation initiale », et le temps de l'apparition de celle-ci :

N°	Sérums :	Temps de flocculation	Dose de sérum :
1°	Vivette	3 h. 30	2 cc.
2°	Ergoline	3 h.	3 cc. 5
3°	Eliane	4 h.	3 cc.
4°	Babert	5 h.	3 cc.
5°	Veinard	4 h.	2 cc.
6°	Hélisse	6 h.	3 cc.
7°	Troupier	4 h.	4 cc.
8°	Alker	5 h.	4 cc.
9°	Cadette	8 h.	4 cc.
10°	Amex	6 h.	1 cc.
11°	Uracca	8 h.	4 cc.
12°	Rose III	6 h.	4 cc.
13°	Grenoble	6 h.	5 cc.
14°	Mulet Remiremont	5 h.	3 cc, 5
15°	Lapin blanc (hyperimmunisé)	4 h.	3 cc.

Ainsi, d'après ces expériences réalisées avec A. URBAIN, sur 13 sérums de chevaux lymphangiteux, 1 sérum de mulet et 1 de lapin, la flocculation initiale est apparue :

1 fois avec 1 cc. de sérum	} en présence de 20 cc. de toxine préparée en bouillon Martin.
2 fois avec 2 cc. de sérum	
4 fois avec 3 cc. — —	
2 fois avec 3 cc, 5 - —	
6 fois avec 4 cc. — —	

Nous avons pu constater que la réaction de flocculation est spécifique, elle ne se manifeste pas avec le sérum normal équin, le sérum normal de lapin, le sérum anti-tétanique, le sérum anti-scarlatineux, et le sérum anti-diphtérique. De même, le sérum anti-Preisz-Nocard (nous avons choisi le sérum le plus actif) ne fait flocculer ni la toxine tétanique, ni la toxine diphtérique.

Nous avons pu mettre en évidence cette réaction de flocculation, plusieurs fois depuis les expériences précédentes : avec deux sérums de lapin (1 et 9), hyperimmunisés :

flocculation avec 2 cc., 5 et 3 cc. en 5 et 4 heures.

avec les sérums 708 (Garches) : flocculation avec 2 cc. en 8 heures.

Berlue : » » 3 cc. en 7 heures.

Carillon : » » 2 cc. en 8 heures.

Chandaraé : » » 2 cc. en 6 heures.

Toutes les expériences précédentes ont été réalisées avec 20 cc. de toxine en bouillon Martin. Nous les avons répétées en utilisant

une toxine préparée sur bouillon Ramon + glucose + acetate de soude, et bouillon Martin glucosé, maltosé ou glucosé-maltosé.

Au lieu de répartir 20 cc. de toxine par tube, nous n'avons mis que 10 cc. et des doses moindres de serum, variant de 0 cc.5 à 1 cc.5 :
Serum 708 ajouté à toxine en bouillon Ramon : flocculation en 4 heures avec 1 cc. 2

- ajouté à toxine en bouillon ordinaire : flocculation en 8 heures avec 0 cc. 9
- ajouté à toxine en bouillon maltosé-glucosé : flocculation en 3 h. 30
- ajouté à toxine en bouillon glucosé, ou maltosé : flocculation en 7 heures. (tous 2 avec 0 cc. 9 de serum).

Serum Carillon, ajouté à toxine en bouillon ordinaire : flocculation avec 1 cc. en 8 heures

- ajouté à toxine en bouillon maltose + glucose : flocculation avec 1 cc. 2 en 6 h.

Serum Chandarne, ajouté à toxine en bouillon ordinaire : flocculation avec 0.9 cc. en 6 heures.

- ajouté à toxine en bouillon maltose + glucose : flocculation avec 1 cc. en 3 h.

Ces expériences nous montrent que la flocculation est plus rapide avec de la toxine préparée en bouillon Ramon et bouillon glucose-maltosé, qu'avec celle préparée en bouillon ordinaire. D'autre part, il faut une quantité de serum plus grande, ce qui prouve bien que la toxine préparée sur ces milieux est plus active. Nous savons en effet, que « dans le mélange qui floccule en premier lieu, la toxine et l'antitoxine se sont mutuellement annihilées dans leurs effets. Il y a neutralisation ou mieux saturation réciproque des deux constituants du mélange : antigène et anticorps » (RAMON).

Inversement, avec une toxine moins active, il faudra une quantité moindre de serum pour obtenir la flocculation initiale. Voici, à titre d'exemple, une expérience illustrant ces faits :

Soit le serum antitoxique (708) ajouté à des toxines variant de 0 cc.5 à 1 cc.5, à 10 cc. de toxine (708) et toxine (788). 1 10 cc de la toxine (788) tue le cobaye de 500 gr. en 36 heures.

1 10 cc. de la toxine (708) tue le cobaye de 500 gr. en 48 heures.

La flocculation initiale apparaît dans le mélange toxine 788 + 0 cc. 9 de serum et dans le mélange toxine 708 + 0 cc. 7 de serum ; (cette dernière toxine est en effet moins active).

Nous injectons 1 et 2 cc. de ces mélanges à des cobayes, sous la peau. Aucun de ces animaux ne manifeste de lesions ou de symptômes d'intoxication.

Par contre :

1 cobaye recevant sous la peau 1 cc. du mélange (toxine 788 + 0 cc. 5 serum) meurt en 32 jours, avec une escarcelle et avec une aschémie locale :

1 cobaye recevant sous la peau 1 cc. du mélange (toxine 708 + 0 cc. 5 serum) meurt avec les mêmes signes en 32 jours.

Ces deux derniers cobayes ont succombé car ils ont reçu un mélange contenant une dose de sérum insuffisante pour neutraliser la toxine.

V. Nature de la toxine du bacille de Preisz-Nocard

DASSONVILLE, à la suite de ses expériences, exposées précédemment, s'est demandé si la toxine du bacille diphtérique et celle du bacille de Preisz-Nocard constituent deux espèces toxiques différentes, deux variétés d'une même espèce toxique ou bien une seule et même toxine. Comparant la grosse quantité de sérum antidiphtérique nécessaire pour inactiver une dose mortelle de toxine de bacille de Preisz-Nocard à celle très minime agissant sur la toxine diphtérique, DASSONVILLE conclut que ces deux toxines ne sont pas identiques, quoique se ressemblant beaucoup.

NICOLLE, LOISEAU et FORGEOT montrent l'identité de la toxine des microbes de Preisz-Nocard et de celle des filtrats. Leur étude des germes atoxiques leur permet de conclure que parmi les facteurs de toxicité de ces bacilles, l'un constant, est représenté par la substance fondamentale, l'autre inconstant par la toxine soluble.

Cette étude prouve également que la toxine Preisz-Nocard est tout-à-fait différente de la toxine diphtérique par la rapidité de son action, la nature des lésions qu'elle engendre et par l'absence des paralysies tardives. En outre, la substance fondamentale du bacille de Preisz-Nocard apparaît différente de celle du bacille diphtérique par sa plus grande décoagulabilité que le traitement à l'alcool-éther permet de faire rétrocéder.

NICOLLE, CÉSARI et JOUAN (1919) rangent la toxine du bacille de Preisz-Nocard dans le groupe des toxines sans incubation, produisant des escharres humides, se rapprochant des venins de vipéridés, tandis que la toxine diphtérique est classée dans le groupe des toxines à incubation et escharres sèches, voisinant avec les albumotoxines végétales du type de la ricine.

D'après les expériences de BROCC-ROUSSEU et URBAIN (1925), les cobayes vaccinés contre la toxine du bacille de Preisz-Nocard sont tués par une dose mortelle de toxine diphtérique.

RAMON (1925) a constaté avec BOQUET que des cobayes vaccinés avec l'anatoxine diphtérique et supportant sans aucun trouble des doses considérables de toxine diphtérique (plusieurs centaines de doses mortelles) ne résistent pas à l'injection d'une dose mortelle de bacille de Preisz-Nocard.

MAILLAND (1930) a soumis les chevaux d'un escadron de son régiment ou sévissait la lymphangite ulcéreuse, à la réaction de Schick (injection de toxine diphtérique simultanément dans le derme d'une face de l'encolure et sous la peau de l'autre face). Sur 141 chevaux soumis à l'épreuve, 48 ont réagi positivement. 4 chevaux seulement contractèrent la lymphangite ulcéreuse après ces inoculations et parmi eux, un seul avait eu une réaction de Schick positive.

FORGEOT (1930) insiste à nouveau sur la différence existant entre la substance fondamentale des bacilles de Preisz-Nocard et de Klebbs-Löffler, bien mise en évidence en utilisant des germes atoxiques. Les bacilles de Preisz-Nocard atoxiques injectés sous la peau du cobaye sont mieux résorbés que les bacilles diphtériques atoxiques, parce que leur substance fondamentale offre une plus grande décoagulabilité.

La preuve en est que si l'on coagule le bacille de Preisz-Nocard par l'action de l'alcool-éther, et que l'on en injecte sous la peau du cobaye, la réaction locale est alors identique à celle observée avec le bacille diphtérique frais. D'autre part, les bacilles de Preisz-Nocard vivants atoxiques tuent par voie veineuse le cobaye à des doses plus faibles que le bacille diphtérique.

Contrairement au sérum antidiphtérique, le sérum anti-Preisz-Nocard n'hypersensibilise pas le cobaye vis-à-vis d'une injection intra-veineuse de bacilles homologues vivants (toxiques ou non). On ne peut également obtenir d'hypersensibilisation active avec le bacille de Preisz-Nocard, alors que celle-ci est possible avec le bacille diphtérique.

Si nous rapprochons de ces diverses constatations le fait que nous n'avons jamais pu mettre en évidence « in vitro » le phénomène de flocculation, en associant soit de la toxine diphtérique et sérum anti-Preisz, soit de la toxine de bacille de Preisz-Nocard et de sérum antidiphtérique, nous devons conclure que ces deux toxines sont différentes bien que parfois le sérum antidiphtérique puisse avoir « in vivo » une certaine action empêchante vis-à-vis de la toxine du bacille de Preisz-Nocard. Nous rappellerons également que jamais nous n'avons trouvé de congestion de glandes surrénales chez les cobayes ayant succombé à l'injection de cette toxine et que les phénomènes paralytiques ont été exceptionnellement observés.

Enfin, pour compléter cette étude, nous avons repris des expériences déjà réalisées en 1923 par A. URBAIN, et que ce dernier a bien voulu nous communiquer.

Nous avons injecté à des cobayes 3 doses mortelles de toxine diphtérique préalablement mélangée à du sérum anti-Preisz ou à du sérum normal. (Nous rappellerons, à ce propos, que H. V. SCHOENING a vu que chez 30 % de chevaux normaux, le sang contenait une antitoxine diphtérique suffisante pour protéger le cobaye contre 2 doses de toxine).

Voici une de nos expériences :

1 cobaye reçoit 1/50 cc. de toxine diphtérique	= + en 12 h.
1 — — + 1 cc. sérum normal	= + en 28 h.
1 — — + 1 cc. sér. anti-Preisz	= + en 28 h.
1 — — + 2 cc. — —	= + en 28 h.
1 — — + 1 cc. sér. anti-diphtér.	= Survie.

Dans une autre expérience, des cobayes recevant soit 1 ou 2 cc. de sérum anti-Preisz, soit 1 cc. de sérum normal, puis 24 h. après 1/50 cc. de toxine diphtérique, meurent en 36-40 heures.

Le sérum anti-Preisz n'a donc aucune action antitoxique vis-à-vis de la toxine diphtérique.

Nous terminerons ce chapitre en signalant les récentes constatations faites par CARPANO (1932), avec le bacille qu'il a isolé du chameau. Ce bacille, ayant les caractères cultureux et pathogènes du bacille de Preisz-Nocard, a permis à cet auteur de faire des expériences d'immunité croisée avec le bacille diphtérique : des cobayes et des lapins, vaccinés contre le bacille du chameau, puis inoculés avec du bacille diphtérique meurent moins rapidement que des témoins ; l'un d'entre eux résista, même, à l'infection diphtérique.

CHAPITRE X

Immunisation

A) Vaccination

1° — Mouton

CARRÉ (1910) a déterminé, au laboratoire, sur le cobaye et le mouton, la température à laquelle une souche de bacille de Preisz-Nocard perdait en grande partie le pouvoir de donner naissance à du pus, tout en produisant cependant une réaction locale (œdème assez étendu). Il a pu ainsi préparer deux vaccins d'activité graduée :

le premier ne donne que de l'œdème au cobaye,

le deuxième donne parfois un petit abcès au point d'inoculation ; le mouton résorbe les deux vaccins sans production de pus. Ces vaccins injectés chez le mouton, à la dose de 1 cc. sous la peau de la cuisse, à 10 jours d'intervalle, ont donné d'excellents résultats chez les nouveaux-nés contre les lésions consécutives à l'infection de la plaie ombilicale, chez les jeunes et chez les adultes, en milieu contaminé ou infecté, contre les accidents d'ordre toxique.

D'autre part, CARRÉ a fait plusieurs groupes d'expériences montrant que le fait d'avoir présenté un abcès suffit pour procurer au mouton une immunité très appréciable contre la toxine. Il a utilisé plusieurs variétés de bacilles, même peu ou pas pathogènes, qui influencent suffisamment l'organisme pour le protéger à faible dose, contre la toxine. Voici, entre autres, deux de ses observations :

1° (1909). — 2 brebis, ayant absorbé dans des aliments des cultures de bacilles de Preisz-Nocard virulents et toxiques, reçoivent, un an après, 10 cc. de toxine (mortelle pour des témoins) sans accident. Le même résultat est obtenu avec des bacilles avirulents.

2° (1910). — 3 brebis reçoivent dans le trayon 5 cc. d'une dilution au 1/100^e d'une culture homogéinisée de bacilles, en bouillon, âgée de 5 jours. L'une des brebis (neuve) meurt le quatrième jour, avec abcès de la mamelle. Les 2 autres brebis, infectées l'année précédente par le bacille de Preisz-Nocard, résistent à la toxine, quoique maigrissant, mais font néanmoins des abcès.

(A ce propos, CARRÉ compare ces résultats avec ceux observés

avec le bacille diphtérique, qui sécrète une toxine au niveau des lésions de la muqueuse des premières voies respiratoires chez l'homme, et dont les effets nocifs peuvent cependant passer inaperçus).

Enfin, CARRÉ montre que l'immunité des porteurs d'abcès, contre la toxine, n'est pas héréditaire ; en outre les moutons, solidement immunisés contre la toxine, sont sans défense contre le bacille lui-même.

SIVORI (1912) injecte impunément 3 cc. de toxine (dose mortelle pour une brebis témoin en 40 heures) à une brebis qui, 9 mois auparavant avait présenté des nodules sous-cutanés, et un abcès local, après injection de bacille de Preisz-Nocard. Il constate également que les moutons porteurs d'abcès produits par l'infection naturelle, sont réfractaires à des doses de toxine, mortelles pour des animaux sains.

En 1923, CARRÉ, à la suite de nouvelles observations, fait remarquer que la vaccination, qui préventivement, n'empêche pas la création de lésions suppurées, ne peut guère agir sur celles qui sont déjà constituées, surtout si elles intéressent un organe d'importance primordiale (foie, par exemple). Mais, quand la toxine diffuse d'une lésion importante par elle-même, son action est enrayée (arrêt de la mortalité dans les troupeaux), dès l'injection du 1^{er} vaccin et la convalescence des malades est rapide.

De nombreux praticiens ont signalé les bons effets du vaccin Carré chez le mouton : ELOIRE (1922), BOURBON (1925), PLESSY, BOUHET, (1926), PELLETIER (1929), ABADIE (1932).

En 1929, DESCAZEUX constate que les bacilles tués par la *chaleur* ont leur toxicité en partie détruite ; le culot d'une culture entière en bouillon sérum a pu être inoculé à un mouton sans provoquer la mort, malgré une réaction locale et générale accusée. Le *formol* également atténue considérablement l'activité des cultures et de la toxine. Des cobayes ont pu être inoculés sans accidents avec 2 cc. d'anaculture et d'anatoxine provenant de cultures en bouillon-sérum, de 48 heures, traitées par le formol à 4 p. 1000, durant 48 heures, à l'étuve.

Des moutons ont pu recevoir 3 cc. sous la peau de ces cultures ainsi traitées, sans accidents.

Aussi, DESCAZEUX, a entrepris des expériences pour voir si ces inoculations étaient capables de produire un certain degré d'immunité chez les inoculés, vis-à-vis de l'infection expérimentale, mais il n'en a pas publié les résultats,

CARPANO (1932) dit avoir obtenu d'excellents résultats, à titre préventif, chez le chameau avec des ana-vaccins (cultures formolées), préparées avec un *Corynebacterium* isolé de lésions de cet animal, microbe ayant les caractères du b. de Preisz-Nocard.

2°. — Cheval

Chez le cheval, la fréquence des récidives tardives après guérison apparente est un des symptômes caractéristiques de la lymphangite ulcéreuse, ce qui prouve que cet animal peut rester sensible pendant des semaines et des mois aux infections endogènes. Est-il

également sensible aux infections exogènes et peut-il acquérir une immunité complète ou seulement une résistance appréciable ?

D'après WATSON (1918), il serait possible d'immuniser le cheval contre le bacille de Preisz-Nocard (même à des doses élevées) mais l'immunité conférée serait de courte durée : en effet, après deux ou trois mois, un cheval vacciné pourrait être infecté, mais la lésion créée serait bénigne et son évolution renforcerait l'immunité.

NEWSON (1918) estime qu'on ne peut avoir l'espoir d'une vaccination préventive, puisqu'une première atteinte de la maladie ne semble pas conférer d'immunité.

VAN SACEGHEM (1918) a constaté qu'une petite atteinte de lymphangite ulcéreuse ne conférerait pas d'immunité, mais au contraire prédisposait à de nouvelles infections, tandis que des lésions importantes, évoluant avec fièvre, contribuaient à la formation d'anticorps curatifs, d'où une méthode de traitement qui sera exposée plus loin.

En 1919, le Centre Militaire de Recherches de l'Ecole d'Alfort, expose le résultat de ses expériences d'immunisation :

Deux chevaux guéris, du moins en apparence, reçoivent d'abord des toxines du microbe, à des doses croissantes, puis des cultures vivantes. L'un d'eux succombe à des localisations rénales, l'autre, après 5 mois d'inoculation, présente une récurrence de ses lésions ulcéreuses anciennes et meurt à son tour avec des lésions généralisées.

Ces résultats montrent « l'impossibilité de vacciner en matière de maladies chroniques ».

Il résulte des expériences de BOQUET (1920) que les chevaux malades ou convalescents (depuis peu) de lymphangite ulcéreuse présentent à la suite de réinoculations de bacilles de Preisz-Nocard vivants, un unique abcès local à évolution rapide. Mais la résistance de ces animaux est telle que les bacilles ne peuvent franchir la paroi de l'abcès (phénomène analogue en quelque sorte au phénomène de Koch qui traduit à la fois l'hypersensibilité des tuberculeux à l'action toxique des microbes et l'apparition d'un certain degré de résistance).

Des inoculations intraveineuses de cultures de bacilles de Preisz-Nocard ne confèrent pas d'immunité appréciable.

3°. — Cobayes.

Les expériences d'immunisation tentées chez le cobaye ont été peu nombreuses, depuis celles de CARRÉ exposées en tête de ce chapitre.

D'après HALL et STONE (1916) une première inoculation de bacille de Preisz-Nocard au cobaye lui conférerait une certaine immunité. Ces auteurs pensent qu'il s'agit d'une véritable immunisation bactérienne plus importante que dans le cas d'infection par le bacille diphthérique.

Nous avons vu que BROCC-ROUSSEU et URBAIN (1925) ont traité la toxine du bacille de Preisz-Nocard par le formol, et la chaleur. Ils

ont injecté à des cobayes de la toxine formolée à 3 p. 1000 et de la toxine non formolée, ayant séjourné un mois à l'étuve.

Dans une première expérience, 4 cobayes de 600 gr. reçoivent sous la peau, à 20 jours d'intervalle, chaque fois 1 cc. de toxine formolée, 4 autres cobayes reçoivent dans les mêmes conditions, les mêmes doses de toxine non formolée. Eprouvés, 10 jours après la dernière injection, avec 1 cc. de toxine active, tous ces animaux meurent dans le même temps que deux cobayes témoins.

Dans une 2^{ème} expérience, 10 cobayes reçoivent, 2 fois par la voie sous-cutanée, à 20 jours d'intervalle, 3 cc. de toxine formolée ; 6 autres cobayes reçoivent dans les mêmes conditions 3 cc. de toxine non formolée. Tous ces animaux, ainsi que deux cobayes témoins, sont éprouvés 10 jours après la dernière injection avec des doses variables de toxine. Alors que les témoins meurent en 2 jours avec 1 cc de toxine, les animaux préparés résistent tous à des doses variant de 3 à 5 doses mortelles de toxine.

Cette expérience montre que pour vacciner des cobayes contre la toxine, la toxine formolée n'a pas de supériorité sur la toxine non formolée, rendue atoxique par l'action de la chaleur. En outre, ces deux anatoxines ne possèdent qu'un faible pouvoir antigène puisqu'il en faut des doses élevées pour vacciner le cobaye.

En 1929, LIGNIÈRES dit n'avoir obtenu aucun résultat dans les essais de vaccination qu'il a tentés chez le cobaye, en utilisant des émulsions de bacilles tués par la chaleur ou le formol et injectées par diverses voies (sous-cutanées, scarifications, frictions etc.....)

CÉSARI (1930) montre, par ses expériences, que l'infection à bacille de Preisz-Nocard ne procure pas l'état de prémunition ; il inocule à 2 cobayes qui avaient reçu un mois auparavant, une injection virulente dans la patte postérieure droite et qui offraient une énorme hypertrophie des ganglions poplitée et inguinale droits, une 2^{ème} dose de culture virulente dans le coussinet plantaire de la patte opposée. Les mêmes lésions évoluent du côté gauche, mais elles guérissent rapidement et en même temps, on constate une guérison des lésions anciennes (résolution des tuméfactions ganglionnaires), d'où la possibilité d'une « *virusthérapie* ». Ces faits concordent avec les observations de VAN SACEGHEM (1919) chez le cheval, sur lesquelles nous reviendrons plus loin.

Nous avons tenté plusieurs expériences pour essayer de mettre en évidence chez le cobaye, une immunisation *antimicrobienne*, après inoculation de doses non mortelles de microbes, par diverses voies.

1°. — *Voie intradermique.* — a) 2 cobayes ayant reçu 10⁻³ cg de bacilles dans le derme de la patte postérieure gauche (abcès et hypertrophie ganglionnaire) reçoivent deux mois après dans le derme de la patte opposée 1/10 cg. Les 2 cobayes moururent en 3 jours, avec un volumineux œdème de la patte injectée et un réveil des lésions de la patte antérieurement inoculée. Un cobaye témoin succombe à la même injection, en 24 heures.

b) Un autre cobaye reçoit un mois après une inoculation non mortelle intradermique, 1/10 de cg dans le péritoine, il succombe en 24 heures comme un témoin.

c) un cobaye de 700 gr. rasé et scarifié sur le dos est frotté avec une émulsion contenant 1 cg de Preisz-Nocard dans 10 cc. ; d'eau physiologique. Il fait une grosse réaction locale. Un mois après il reçoit sous la peau 1/10 cg de bacilles et meurt en 24 heures.

2°. — *Voie sous-cutanée.* — a) un cobaye ayant reçu 10⁻³ cg. de bacilles sous la peau (abcès local) reçoit deux mois après, sous la peau, 1/100^e de cg. (dose non mortelle pour 1 témoin) ; il fait un abcès en 7 jours. Un mois après, il reçoit 1/10 cg. dans le péritoine. Il meurt en 18 heures.

b) un cobaye ayant reçu 1/10 cg. d'une souche peu virulente (escharre-abcès avec bacilles) reçoit 3 semaines après, sous la peau, 1/10 cg. d'une souche plus virulente. Il meurt en 48 heures comme un cobaye témoin.

3°. — *Voie intraveineuse.* — Deux cobayes mâles ayant reçu 10⁻⁶ cg. de microbes dans la veine, reçoivent un mois et demi après 1/100 cg et 1/10 cg respectivement. Le dernier meurt en 24 heures, l'autre en 4 jours, avec du pus dans le péritoine et sur la vaginale.

4°. — *Voie intratrachéale.* — Un cobaye ayant reçu 10⁻⁵ cg dans la trachée, reçoit un mois et demi après, une dose mortelle pour un témoin : 1/100 cg dans le péritoine et *résiste*, mais présente une orchite. Un mois après, il reçoit dans le péritoine 1/10 cg sans incidents.

Deux mois et demi après, il reçoit à nouveau 1/10 de cg. dans le péritoine et meurt en 24 heures.

5°. — *Voie péritonéale.* — a) Un cobaye ayant fait une orchite après inoculation intra-péritonéale d'une öse de voile d'une culture en bouillon, reçoit 5 mois après 1/10 cg (dose mortelle en 24 h. pour un cobaye témoin) dans le péritoine. Il meurt en 7 jours après avoir présenté de nouveaux signes inflammatoires au niveau du scrotum.

b) Un cobaye, ayant fait une orchite à évolution très lente après injection d'une öse de voile d'une culture de repiquage d'une souche datant de 11 mois, reçoit 2 mois après dans le péritoine 1/20 cg. (dose mortelle) et *résiste*.

Le mois suivant, injection dans le péritoine de 1/10 cg. sans réaction scrotale.

2 mois après, injection, sous-cutanée d'une dose mortelle pour un témoin de 1/10 cg. Il fait un petit abcès sous-cutané qui cicatrise en 15 jours.

2 mois après cette injection, il reçoit à nouveau, dans le péritoine 1/10 cg. (2 cobayes témoins succombent à cette dose en 24 h). On assiste à une nouvelle réaction scrotale, avec abcédation en 10 jours.

3 mois enfin après, nouvelle injection de 1/10 cg. dans le péritoine, soit près d'un an après la première injection ; le cobaye meurt

en 3 jours, avec péritonite purulente et orchi-vaginalite caractéristique.

c) Un cobaye ayant reçu dans le péritoine une émulsion microbienne d'une souche peu virulente, ne présente qu'un peu d'œdème du scrotum, mais on ne note pas d'abcédation ni d'orchite.

Un mois après, il reçoit 1/10 cg (dose mortelle) dans le péritoine sans réaction. De même, le mois suivant. Enfin après 2 mois, il reçoit 1/10 cg dans le péritoine et meurt en six jours. A l'autopsie, on note seulement un peu de pus sur la vaginale, mais de nombreux abcès péritonéaux, sur le foie, le pancréas et les ganglions mésentériques.

d) un cobaye ayant reçu dans le péritoine une dose minime de bacilles (orchite cicatrisée) reçoit deux mois après 1/10 cg. (dose mortelle) dans le péritoine, sans réaction.

3 mois après, nouvelle injection de 1/10 cg. : mort en 24 heures. A l'autopsie : orchite chronique, avec abcès péritonéal adhérent à la vaginale, gros comme un œuf de pigeon (le pus de cet abcès contenait le bacille à l'état pur).

6°. — *Voie musculaire.* — Deux cobayes ayant fait de gros abcès à la suite d'injections intramusculaires de microbes, reçoivent un mois et demi après, une dose mortelle dans le péritoine et succombent en 24 heures.

Conclusions

Ces expériences montrent que seule une première introduction de microbes vivants par la *voie intrapéritonéale* (et exceptionnellement par la *voie intratrachéale*) peut conférer au cobaye une certaine immunité qui ne semble pas dépasser deux mois. Les autres voies (dermique, sous-cutanée, intraveineuse, et musculaire) se sont montrées inefficaces.

Nous n'avons pas relaté nos expériences entreprises avec des bacilles tués ou atténués par la chaleur car elles ne nous donnèrent aucun résultat. Les cobayes ainsi préparés se sont comportés comme les témoins aux inoculations d'épreuve.

4° Lapins.

Voici l'exposé de nos expériences :

1° *Voie cutanée.* — Lapin n° 8 reçoit 1/10 cg. de microbes *dans le derme*, sur un côté du corps. (grosse réaction locale)

Un mois après, il reçoit 1/5 cg. dans le derme sur l'autre côté, sans réaction, alors qu'un lapin témoin inoculé fait une réaction très importante.

Il reçoit le mois suivant, 1/10 cg. de microbes *sous la peau* ; cette injection reste également sans action, alors qu'elle est suivie d'un volumineux abcès chez un lapin témoin. Même résultat avec lapins 18 et 24.

2°. — *Voie sous-cutanée.* — Lapin A - 92 reçoit sous la peau 1/10 cg. (volumineux abcès) d'un côté du corps. Un mois après, il reçoit sous la peau de l'autre côté 1/5 cg. et fait comme un témoin un gros abcès au point d'injection.

Même résultat avec lapins 40 et 39.

3° *Voie intraveineuse.* — Plusieurs lapins ayant reçu des doses non mortelles de microbes dans la veine (1/100 cg) ne résistent pas, un et deux mois après, à l'injection intraveineuse ou péritonéale de doses mortelles.

4°. — *Voie intrapéritonéale.* — Mêmes résultats qu'avec la voie intraveineuse. Nous verrons plus loin que pour obtenir un sérum anti-Preisz Nocard chez le lapin il faut répéter les injections de doses non mortelles et que les accidents sont fréquents. Enfin, ajoutons que les injections sous-cutanées ou intra-dermiques n'ont jamais protégé les lapins contre les doses mortelles intraveineuses ou intrapéritonéales.

Nos expériences chez le lapin, permettent de conclure que seule l'injection intra-dermique de microbes vivants permet d'immuniser localement le lapin contre le bacille de Preisz-Nocard réinjecté sous la peau ou dans le derme.

Des essais tentés avec des microbes tués ou atténués par la chaleur ne nous ont donné aucun résultat.

Des constatations faites chez le mouton, et le cheval, par la plupart des auteurs et chez les animaux d'expériences, nous devons conclure que l'immunisation antimicrobienne est pratiquement irréalisable avec le bacille de Preisz-Nocard ; seule l'immunité antitoxique est possible, mais si elle offre un intérêt chez le mouton, elle n'en a aucun, pratiquement chez le cheval.

Les observations faites chez le lapin ont cependant attiré notre attention sur l'efficacité de la voie intradermique, ce qui ne saurait nous étonner, puisqu'il s'agit d'un germe, qui, nous l'avons vu, affectionne cette voie pour pénétrer dans l'organisme.

C'est pourquoi nous nous sommes demandés si avec ce bacille, on ne pourrait pas préparer un antivirüs, analogue à celui obtenu par BESREDKA, avec le *streptocoque* et le *staphylocoque*, germes ayant une affinité élective pour l'appareil cutané. Nous rappellerons que BESREDKA a montré qu'il existe à l'intérieur de ces microbes, à côté d'un virus, très sensible à la chaleur, adhérant au corps microbien et provoquant des lésions graves chez l'animal de laboratoire, une substance atoxique, insensible à la chaleur se détachant facilement du corps du microbe et agissant à la façon d'antagoniste, d'où son nom d'*antivirüs*. Comme le virus, l'*antivirüs* a également une affinité élective pour la peau.

L'*antivirüs strepto* ou *staphylococcique*, paralyse l'action du *streptocoque* ou du *staphylocoque*, aussi bien *in vivo* qu'*in vitro* : d'où la possibilité d'une antivirüsthérapie qui a fait ses preuves aussi bien chez l'homme que chez les animaux.

B. Antivirus du bacille de Preisz-Nocard

Nous avons préparé cet antivirus suivant la méthode de Besredka. Des cultures en bouillon Martin de diverses souches de bacilles de Preisz-Nocard sont conservées à l'étuve pendant 18 à 20 jours, puis sont filtrées sur bougie Chamberland L3. Le filtrat est chauffé à 68-70°, pendant une heure.

Expériences in-vitro

Ce filtrat est ensemencé avec diverses souches de bacille de Preisz-Nocard. Aucune ne pousse dans le filtrat (il ne se forme pas de voile et le filtrat ensemencé est stérile). Par contre, des souches de streptocoques et de staphylocoques donnent des cultures abondantes après ensemencement dans ce filtrat.

Inversement des souches de bacilles de Preisz-Nocard poussent facilement dans des filtrats de vieilles cultures de streptocoques ou de staphylocoques.

Nous avons obtenu des résultats absolument superposables non pas avec du filtrat, mais avec des cultures entières ayant séjourné à l'étuve pendant 20 jours, chauffées cinq minutes à 100°, ou avec le liquide surnageant après centrifugation de ces cultures, liquide également chauffé cinq minutes à 100°.

Ces expériences montrent que les vieilles cultures filtrées ou non de bacille de Preisz-Nocard contiennent un *antivirus* empêchant ce bacille de s'y développer à nouveau, antivirus strictement spécifique.

Expériences in vivo

a) Nous avons mélangé 2 cc. d'antivirus à une dose mortelle de bacilles, puis nous avons injecté le mélange à des cobayes dans la peau, sous la peau ou, dans le péritoine. Aucun cobaye n'a résisté.

b) La même expérience fut répétée chez le lapin, qui, nous l'avons vu, résiste aux injections sous-cutanées ou intradermiques et fait seulement une réaction locale. Nous avons utilisé des filtrats chauffés à 70°, car nous avons constaté que l'antivirus non chauffé produisait lui-même une petite réaction locale (œdème et rougeur au point d'inoculation).

Nous avons pu constater que le mélange (antivirus + 1/10 cg. de bacilles), injecté, soit sous la peau, soit dans la peau, produisait une réaction locale bien moins importante (escharre minime et cicatrisant rapidement) que l'injection de l'émulsion bacillaire seule.

c) Des cobayes reçoivent, dans la peau du dos, 1 cc. antivirus répartis en plusieurs points. Le lendemain, ils reçoivent dans le derme plantaire une dose mortelle : 1/10 cg. de bacilles. Les cobayes résistent à cette inoculation qui tue un cobaye témoin en 36 heures, mais font néanmoins une réaction locale.

L'injection sous-cutanée d'antivirus ne protège pas le cobaye

contre une dose mortelle de bacilles, injectée par voie sous-cutanée ou intradermique.

Ni l'injection dans la peau, ni, à fortiori, sous la peau, d'antivirus ne protègent le cobaye contre une dose mortelle inoculée dans le péritoine.

Enfin, plusieurs cobayes ayant reçu 1 ou 2 cc. d'antivirus dans le péritoine ne résistent pas le lendemain à l'inoculation intrapéritonéale de 1/10 cg. (dose mortelle en 24 heures).

d) 2 lapins reçoivent l'un sous la peau, l'autre dans la peau, 1 cc. d'antivirus chauffé, puis le lendemain 1/10 cg. de bacilles, le premier sous la peau, le second dans la peau, ainsi que deux lapins témoins.

Tous les lapins réagissent mais avec une intensité moindre des lésions, chez les vaccinés. Cette atténuation est surtout manifeste pour le lapin ayant reçu l'antivirus dans la peau.

c) 2 lapins sont rasés sur les deux côtés du corps, puis scarifiés légèrement :

l'un des lapins (N° 16) est frotté à gauche avec de l'antivirus chauffé, à droite avec de l'antivirus non chauffé.

L'autre (N° 17) est frotté à gauche avec du bouillon Martin ; le côté droit est laissé intact.

Des pansements protecteurs imperméables sont appliqués.

Le lendemain, on constate que les deux côtés du lapin 16 sont enflammés, surtout du côté droit, (antivirus non chauffé). Après 48 heures, l'inflammation ayant disparu, les côtés des deux lapins sont frottés avec une émulsion bacillaire (1 cg. de microbes dans 20 cc. d'eau physiologique).

Les pansements protecteurs sont réappliqués et dès le lendemain, les deux côtés du lapin n° 17 sont le siège d'une inflammation intense, qui devient rapidement purulente. Par contre, les côtés du lapin n° 16 présentent seulement de la rougeur et une légère inflammation qui disparaît plus de 8 jours avant celle provoquée chez le lapin n° 17.

Conclusions

Ces diverses expériences sont trop peu nombreuses pour permettre d'en tirer des conclusions nettes mais elles tendent néanmoins à prouver que l'on peut préparer un antivirus anti-Preiszi-Nocard, actif *in vitro* et dans certaines conditions *in vivo*, en particulier par la voie cutanée. Ces recherches méritent d'être poursuivies, en notant que l'antivirus semble conserver un peu la toxicité du virus. Il serait donc intéressant d'atténuer cette toxicité ; peut-être par un chauffage plus élevé.

L'emploi de cet antivirus pourrait être tenté chez le cheval comme méthode thérapeutique. C'est le but que nous nous proposons, lorsque les circonstances nous le permettront, afin de mettre au point l'*antivirusthérapie* de la lymphangite ulcéreuse, qui pourrait être employée au même titre que la *bactériothérapie* que nous allons maintenant envisager.

C) Bactériothérapie

En 1916, MONTGOMÉRY recommande l'emploi d'un vaccin anti-Preisiz-Nocard contre la lymphangite ulcéreuse dans l'Est-Africain.

En 1917, TRUCHE prépare un vaccin constitué par une émulsion de bacilles tués par l'alcool-éther, chauffée 5 minutes à 100°. Il conseille d'injecter sous la peau, 2 ou 3 fois, à 8 jours d'intervalle, 1 cc. de bacilles alcool-éther émulsionnés dans 1 cc. d'eau physiologique. La réaction générale est nulle (à peine élévation de température de 0,5 à 1°) ; un léger engorgement apparaît au point d'inoculation pour disparaître au bout de 2 ou 3 jours. Les boutons se dessèchent, la suppuration se tarit. Dans quelques cas tenaces une 4^{me} injection est nécessaire. En général, on note la guérison en un mois, après 2 injections.

MULLIE (1929) en utilisant ce vaccin, a obtenu deux guérisons sur 5 cas traités, mais il ne peut assurer que ceux-ci soient uniquement sous la dépendance du bacille de Preisiz-Nocard. D'après DELMER (1919) le vaccin de Truche exerce une influence favorable sur la marche et la cicatrisation des lésions mais ne met pas à l'abri des récives.

WATSON (1918) prépare un stock-vaccin avec des corps microbiens cultivés sur gélose-sérum, traités par l'alcool-éther ou l'acétone, deséchés puis émulsionnés dans une solution chlorurée sodique phénoglycérinée, de telle façon que 1 cc. de vaccin renferme 0 gr. 005 de bactéries sèches.

Si l'infection est récente et encore localisée, le traitement est commencé avec une dose de 1 cc. et poursuivi pendant 1 mois, à raison d'une injection hebdomadaire de 1 cc. 5... 2 cc.... Si la maladie est bien établie ou s'il y a récive, on commence par 2 cc. et on poursuit en augmentant chaque dose hebdomadaire d'un demi cc. Après l'injection, on note une réaction locale (œdème et sensibilité) diminuant avec le nombre des injections. D'après WATSON, la guérison serait obtenue dans 57 à 75 % des cas.

NEWSON (1918) confirme ces faits et insiste sur la nécessité d'un traitement précoce. HINES (1918) fait des constatations analogues.

KNOWLES (1919) recommande un stock-vaccin polyvalent préparé en tuant par le chlorure d'éthyle les bacilles (10 souches isolées de cas graves) cultivés sur gélose-sérum de cheval.

Les cultures râclées sont émulsionnées dans une solution de chlorure de sodium à 7,5 p. 1000, à raison de 5 mmgr. de corps microbiens par cc. L'émulsion est mise en contact pendant 48 heures à 0° avec le chlorure d'éthyle, à volume égal. Les tubes contenant l'émulsion sont ensuite plongés dans de l'eau tiède à 25-30°, pour éliminer le chlorure d'éthyle. Le vaccin obtenu est conservé après addition de phénol.

Les injections sous-cutanées sont pratiquées tous les sept jours ; on commence par une dose de 1 cc. que l'on augmente de 0 cc. 25 à chaque injection, sans dépasser les doses de 2 cc. à 2 cc. 5.

KNOWLES a traité ainsi 151 chevaux et obtenu 82 % de guérisons

alors que la guérison ne dépassait pas 41 % chez les chevaux non traités.

D'après les expériences du Centre Militaire de Recherches de l'Ecole d'Alfort, les cultures tuées à l'alcool-éther donnent des résultats favorables mais passagers. Injectées, sous la peau, elles ont l'inconvénient de provoquer la formation de petits ulcères nécrotiques : aussi faut-il préférer les injections intramusculaires.

Le vaccin à l'éther n'aurait en réalité aucune action spécifique, mais seulement un pouvoir stimulant général renforçant la phagocytose. Les cultures tuées par la chaleur et les cultures vivantes elles-mêmes ne se sont pas montrées plus efficaces.

VAN SACEGHEM (1918) injecte sous la peau de l'encolure de chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse 2 fortes anses de culture de bacilles de Preisz-Nocard ; ces inoculations produisent rapidement un vaste œdème qui s'abcède le 5^e jour. L'abcès ouvert donne un pus blanc crémeux et guérit rapidement. Il se produit une leucocytose marquée favorable à la guérison, mais il importe de faire les inoculations dès qu'apparaît la première lésion. VAN SACEGHEM a obtenu les mêmes résultats en injectant du pus, ainsi que nous le verrons plus loin.

En 1929, CARRÉ signale qu'un cheval atteint de lymphangite ulcéreuse tellement grave que l'on songeait à le faire abattre, reçut à 8 à 10 reprises des bacilles tués par la chaleur, à des doses énormes (une demi-boîte de Roux) et put guérir de ses lésions.

En 1930, MAILLAND a utilisé un vaccin préparé au laboratoire Militaire, constitué par les corps microbiens d'une culture sur gélose d'une boîte de Roux, émulsionnés dans 40 cc. d'eau physiologique, tués par le formol à raison de 2 pour 1000 (vaccin n° 1) ou dans 80 cc. d'eau physiologique tués par la chaleur (75°) pendant une heure (vaccin n° 2).

Les inoculations sont pratiquées tous les cinq jours en moyenne.

Le vaccin n° 1 injecté à la dose de 5 cc. sous la peau, entraîne des réactions locales et générales assez prononcées ; élévation marquée de la température, diminution de l'appétit lors des premières injections, manifestations qui s'atténuent par la suite. Les mêmes réactions sont observées après l'inoculation du vaccin n° 2 (10 cc.) quoique un peu moins prononcées. Chez certains sujets sensibles, porteurs de lésions rénales, le vaccin peut déterminer de petits accidents : albuminurie, œdèmes des membres. MAILLAND a pu constater que les chevaux, atteints d'une lymphangite particulièrement rebelle, se sensibilisent à la suite de nombreuses injections de vaccins, des abcès apparaissent à intervalles rapprochés, (d'où nécessité d'interrompre le traitement au moins pendant un mois). Sur 16 malades traités par la vaccinothérapie, 10 guérirent ; il y eut cinq insuccès et 1 résultat douteux, la durée moyenne du traitement est de 67 jours.

COLETTE (1931) a utilisé avec succès un vaccin préparé au Laboratoire Militaire suivant la technique précédente (vaccin chauffé n° 2) en utilisant des souches isolées de ses malades. Il injecta d'abord sous la

peau 5 cc. de l'émulsion, puis 8 jours après 10 cc., dose répétée tous les jours. Cinq malades furent ainsi traités et guérèrent dans un délai variant de 8 à 16 semaines ; un seul présenta une réaction locale. 4 chevaux purent être suivis pendant plus de six mois sans qu'aucune récurrence soit notée. COLETTE attribue à une action antitoxique du vaccin le maintien en bon état de ses malades.

Actuellement, nous préparons au Laboratoire Militaire des auto-vaccins chauffés, toujours comme précédemment et les vétérinaires traitants obtiennent des résultats satisfaisants.

Voici à titre d'exemple, les résultats obtenus récemment par le Vétérinaire Capitaine TRAIN ;

Guérison complète et sans récurrence de deux chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse, après 5 injections (2 fois 5 cc. de vaccin, 3 fois 10 cc.) dans un cas et 4 injections, dans l'autre (1 fois 5 cc. et 3 fois 10 cc. de vaccin) les injections étaient répétées à une semaine d'intervalle.

D'autres auteurs ont utilisé une méthode de vaccination différente : la pyothérapie.

Dès 1917, BELIN a préconisé l'auto-pyothérapie pour le traitement de la lymphangite ulcéreuse. Le pyo-vaccin est constitué par du pus dilué, traité par l'éther, puis stérilisé par la chaleur et addition d'acide phénique (premiers essais), ou après traitement par l'éther, additionné d'eau iodée. De 1917 à 1919, BELIN obtient d'excellents résultats après 3 injections sous-cutanées ou intra-musculaires de 3 cc. de vaccin, espacées de 24 heures, puis renouvelées tous les 5-6 jours jusqu'à guérison. La pyothérapie agit soit en arrêtant définitivement les poussées d'abcès, soit en les espaçant davantage ; elle détermine en outre une cicatrisation rapide des abcès. D'après l'auteur le pus semble agir surtout sur l'évolution des plaies et les bacilles, surtout sur celle de l'affection.

BELIN recommande même l'emploi du pyo-vaccin à titre préventif mais VALLÉE doute de la possibilité d'une action préventive.

THOMAS (1918) cite 15 observations de lymphangite ulcéreuse guérie sans récurrences par le pyo-vaccin Belin.

TASKIN (1920) n'a pas obtenu des résultats aussi heureux avec le pyo-vaccin ; seuls les animaux en bon état ont subi une amélioration et la spécificité du pyo-vaccin ne semble pas nécessaire.

LEMÉTAYER (1920) a traité, avec succès, 5 cas de lymphangite ulcéreuse par le pyo-vaccin éthéré-iodé.

NEWSON (1920) a également obtenu d'excellents résultats en utilisant un pyo-vaccin préparé avec du pus provenant d'un abcès du rein.

VELU (1919) conseille la préparation d'un hétéro-vaccin éthéré analogue à celui utilisé contre la lymphangite cryptococcique et conseille de ne pas renouveler les injections à dates fixes, mais d'après la sensibilité du sujet, et avant la fin de la phase positive suivant l'injection précédente.

En 1917, BRIDRE ayant remarqué l'efficacité, contre la lymphan-

gite ulcéreuse, d'un pyo-vaccin préparé avec un pus pauvre en germes, s'est demandé si cette efficacité ne tenait pas plutôt aux leucocytes ou débris leucocytaires que renferment les pyo-vaccins. Il a pu ainsi traiter avec succès des chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse, par des injections de pus aseptique prélevé dans un abcès de fixation provoqué par une injection d'essence de térébenthine. Il ne s'agit donc pas de vaccinothérapie mais de *leucocytothérapie*.

VAN SACEGHEM (1918-19) a constaté que la pyothérapie peut guérir ou améliorer sérieusement l'état des chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse. Comme BRIDRÉ, il est d'avis que les propriétés curatives des pyo-vaccins se trouvent plutôt dans les débris leucocytaires ou dans les produits qui en dérivent. Des chevaux ont pu être traités avec succès par des injections de pus à staphylocoque traité à l'éther.

VAN SACEGHEM préconise l'injection intraveineuse de pus (provoqué artificiellement par injection sous-cutanée de cultures de bacilles), traité par l'huile et l'éther sulfurique, puis filtré. Les injections, sont renouvelées après cessation de la réaction thermique provoquée par l'inoculation précédente.

La pyo comme la leucocytothérapie doit ses effets curatifs à la leucocytose intense qu'elle occasionne mais ne peut vacciner.

MÜLLIE (1919) a traité 7 chevaux par le pyovaccin (Méthode Velu) : 5 guérisons, 1 récurrence, et 9 chevaux par le pyovaccin (Méthode Belin) : 6 guérisons, 3 récurrences. Il n'a obtenu qu'une guérison sur 5 cas traités par la leucocytothérapie (Méthode Bridré).

La *protéinothérapie* a été utilisée par quelques auteurs ; c'est ainsi qu'à titre purement expérimental, BOQUET (1920) a essayé de traiter des chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse par des injections de cultures stérilisées de cryptocoques et de levures non pathogènes. Les doses faibles semblent avoir une certaine action favorable mais passagère ; les doses fortes produisent des réactions locales aggravant la maladie.

La malléine brute et la tuberculine brute ont été aussi utilisées avec quelques succès ; elles n'ont aucune action spécifique à l'égard de la maladie, mais elles semblent stimuler le pouvoir phagocytaire de l'organisme comme l'auraient fait d'ailleurs d'autres substances ; le lait, en particulier.

Enfin, mentionnons les essais tentés au Centre Militaire de Recherches d'Alfort (1919), concernant la *toxinothérapie* : BOSSAVY, suivant les conseils de VALLÉE, a traité un certain nombre de chevaux en leur injectant sous la peau, tous les trois jours, 20 cc. de toxine du b. de Preisz-Nocard. Après cinq injections, la guérison apparente est survenue à bref délai, les lésions ulcéreuses cicatrisent assez rapidement, mais quelques récurrences ont été observées.

CHAPITRE XI

Anticorps

1° Sérothérapie

CARRÉ ET BIGOTEAU (1908) obtiennent chez le cheval traité par des injections de toxine, un sérum antitoxique, suffisamment actif, pour protéger, à la dose de 1 cc., un cobaye contre trois cc. de toxine, mais sans action sur le microbe lui-même.

Ce sérum employé chez les moutons a une action curative contre l'affection toxique due au bacille : « les eaux-rousses ». CARRÉ en conseille l'emploi chez le mouton à la dose de 20 cc.

NICOLLE, LOISEAU et FORGEOT (1912) montrent que le sérum Carré ne manifeste aucun pouvoir antivirulent : 1 cc de sérum est incapable de neutraliser par mélange pendant 30 minutes de contact, à la température ordinaire 1/100 cg. de bacilles vivants.

HAAN et AUGER (1917) n'ont constaté aucune propriété curative soit du sérum de chevaux convalescents de lymphangite ulcéreuse, soit du sérum de chevaux guéris, réinjectés aux malades à la dose de 100 cc.

WATSON (1918) a pu hyperimmuniser des chevaux contre des doses énormes de cultures de bacilles de Preisz-Nocard. Le sérum de ces chevaux était capable d'inhiber le développement *in vitro* du bacille de Preisz-Nocard (?) et de protéger le cobaye contre une dose mortelle de toxine. Mais deux chevaux qui fournissaient le sérum ont succombé à une inoculation intraveineuse du microbe. Le cheval survivant guérit grâce au traitement par un vaccin sensibilisé et fournit alors un sérum antitoxique et antibactérien. Ce sérum paraît avoir une action marquée sur la cicatrisation des lésions chez le cheval sérumisé mais il ne le met pas à l'abri des récidives.

WATSON a essayé de renforcer l'action antimicrobienne du sérum en injectant au cheval producteur de sérum des microbes tués par l'alcool-éther suivant la méthode Truche, mais le cheval succomba à une crise anaphylactique.

NEWSON (1918) confirme ces faits.

VAN SACEGHEM (1918) fait ressortir que le sérum des animaux in-

fectés n'a aucun pouvoir antimicrobien. Autant ce sérum est antitoxique, autant son pouvoir bactériolytique est nul.

INGUENEAU (1920) aurait obtenu d'excellents effets curatifs en injectant au cheval malade du sérum de lymphangiteux guéri (10 injections sous-cutanées de 10 cc de sérum à deux jours d'intervalle).

MINETT (1922) est arrivé à obtenir chez le cheval un sérum non seulement antitoxique (comme celui des chevaux naturellement infectés) mais antimicrobien. Il a été obligé d'injecter au cheval des doses considérables de microbes tués par l'alcool-éther ou la chaleur : 50 injections plus ou moins espacées sur une période de 7 mois, allant d'un 1/4 de boîte de Roux à 2 boîtes de gélose ensémençées avec le bacille.

Le sérum ainsi obtenu renferme des substances inhibitrices *in vitro* pour le développement du bacille et *in vivo* abaisse le pouvoir infectant de petites doses de bacilles vivants chez le cobaye et le lapin.

MINETT préconise l'emploi de ce sérum pour traiter les chevaux lymphangiteux dès le début de l'infection mais ses expériences ont été insuffisantes pour pouvoir conclure à l'efficacité de ce traitement.

Nos constatations n'ont pu que confirmer les faits établis par NICOLLE, LOISEAU et FORGEOT concernant l'action antitoxique des sérums de chevaux infectés, ainsi que nous les avons exposés précédemment.

Nous avons également constaté que ces sérums n'avaient aucune action microbicide *in vitro*. A ce propos, GORET. (1931) a montré dans sa thèse de D^r Vétérinaire que l'addition au bouillon de culture usuel, de sérum immunisant spécifique antimicrobien ou antitoxique d'un microbe pathogène aérobie, favorise très nettement la culture du microbe spécifique ou d'un germe vivant voisin. Il relate en particulier, plusieurs observations montrant que le bacille de Preisz-Nocard se développe mieux en bouillon additionné de sérum antidiphthérique qu'en bouillon ordinaire ou additionné de sérum normal.

Nous avons répété ses expériences en ajoutant au bouillon Martin du sérum antitoxique, provenant de chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse. Nous avons constaté un développement plus abondant qu'en bouillon sérum normal, mais il a été difficile d'apprécier une différence de végétation entre le premier milieu et le bouillon Martin ordinaire.

De nouvelles expériences sont en cours actuellement au Laboratoire de maladies contagieuses de l'Ecole d'Alfort, concernant l'action favorisante du sérum antidiphthérique sur le développement du bacille de Preisz-Nocard.

In vivo, le sérum antitoxique des chevaux infectés ne s'est jamais montré antimicrobien. Des cobayes mâles recevant de 2 à 4 cc. de sérum sous la peau, puis le lendemain des doses mortelles de bacilles de Preisz-Nocard dans le péritoine ont succombé comme les témoins ou ont manifesté des orchites spécifiques, après inoculation intrapéritonéale de doses non mortelles.

Nous avons essayé d'hyperimmuniser des lapins. Le sérum s'est toujours montré antitoxique *in vitro* (floculation) et *in vivo*, mais ja-

mais antimicrobien même après plusieurs injections de microbes par diverses voies.

Nous avons d'ailleurs éprouvé beaucoup de difficultés pour hyperimmuniser le lapin, ainsi que le prouvent les expériences suivantes :

1^{re} Expérience. — 2 lapins reçoivent sous la peau 1/4 de culture de bacilles de Preisz-Nocard sur un tube de gélose émulsionné dans 10 cc. d'eau physiologique, et tuée par la chaleur (70° pendant une heure).

4 jours après : 1/2 culture tuée, sous la peau

4 — — 1 culture tuée, sous la peau

4 — — 1 cg. de microbes tués par l'alcool-éther dans la veine. Tout deux succombent en 24 heures.

2^e Expérience. — 2 lapins sont préparés comme les précédents, mais reçoivent 1/2 cg. de microbes alcool-éther sous la peau, puis 4 jours après, 1 cg. sous la peau. L'un d'eux succombe en 48 heures. L'autre (lapin blanc) résiste. Il reçoit 10 jours après 1 cg. de microbes alcool-éther sous la peau. Il est saigné 11 jours après cette dernière injection, mais son sérum n'est pas encore antitoxique.

Ce n'est qu'après deux nouvelles injections sous-cutanées de 1 cg. de microbes alcool-éther, espacées de 11 jours, que son sérum est antitoxique, mais non antimicrobien.

3^e Expérience. — *Lapin n° 1*, reçoit dans la veine le 3 août 1932 : 1 cc. d'émulsion de bacilles (culture sur un tube de gélose, dans 10 cc. eau physiologique). De nombreux abcès apparaissent le 17 août sur l'oreille (8 alignés sur une trainée lymphatique) et renfermant le bacille pur.

Le 8 septembre, les abcès ont tendance à la cicatrisation.

Le lapin reçoit 1/2 cc. d'émulsion (préparée comme précédemment), dans la veine.

Le 19 septembre, il reçoit dans la veine 1 cc.

Le 29 septembre, Il reçoit dans la veine 2 cc.

Le 11 octobre, il reçoit dans la veine 3 cc.

Saigné le 22 octobre, son sérum est antitoxique mais non antimicrobien.

Ce lapin reçoit, trois mois après, 5 cc. d'émulsion dans le péritoine. Il succombe en 24 heures.

4^e Expérience. — *Lapin n° 9*, reçoit le 8 septembre dans la veine 1/2 cc. d'émulsion.

Le 13 septembre, il reçoit dans la veine 1 cc. d'émulsion, (plusieurs abcès apparaissent sur l'oreille, réunis par une corde lymphatique).

Le lapin reçoit dans la veine, le 19 septembre 1 cc, 5 d'émulsion, puis le 29 septembre 2 : cc. —, le 11 octobre 3 cc. Saigné le 22 Octobre, son sérum est antitoxique mais non antimicrobien.

Ce lapin a pu recevoir, en décembre, 5 cc. d'émulsion dans la veine, et 6 cc. en janvier sans succomber, mais de nouveaux abcès à bacilles de Preisz-Nocard ont apparu, entraînant des escharres volumineuses,

qui ont abouti à une chute complète de l'extrémité de la conque auriculaire.

5^{ème} Expérience. — *Lapin A. 94* :

le 3 août 1932	—	reçoit dans le péritoine	1/4 cc.	émulsion
le 17 —	—	—	1/2 cc.	—
le 8 septembre	—	—	1 c.c	—
le 13 —	—	—	2 cc.	—
le 19 —	—	—	3 cc.	—
le 29 —	—	—	4 cc.	—
le 11 Octobre	—	—	5 cc.	—

Le 22 octobre, le sérum de ce lapin est antitoxique mais non antimicrobien,

Le lapin a pu recevoir par la suite (décembre 1932, janvier, mars et mai 1933) des doses mortelles de microbes (6-8-10 cc. d'émulsion) sans succomber. Son sérum, toujours antitoxique, ne s'est jamais montré antimicrobien.

Les expériences précédentes prouvent que la voie intraveineuse et la voie intrapéritonéale permettent d'hyperimmuniser le lapin avec des bacilles vivants, mais le sérum obtenu est seulement antitoxique, comme celui des chevaux atteints de l'affection. Il semble bien qu'il soit pratiquement impossible d'obtenir expérimentalement chez le cheval un sérum qui puisse avoir une action thérapeutique antimicrobienne.

Nous signalerons pour mémoire les essais d'hémothérapie tentés par divers auteurs.

MIDDELDORF (1917) a préconisé l'injection aux malades, sous la peau de l'encolure de 50 cc. de sang prélevé chez un cheval infecté. Il dit avoir obtenu 13 guérisons sur 14 cas ainsi traités, en 6-7 semaines.

BOQUET (1918) n'a pas obtenu de résultats appréciables par cette méthode.

CAROUGEAU (1925) a tenté, à Madagascar, l'autohémothérapie, injectant sous la peau 50 à 60 cc. de sang du malade, tous les 4-5 jours. Les résultats obtenus ont été incertains.

Nous ne reviendrons pas sur les essais de sérothérapie antidiphthérique, précédemment exposés.

HAAN et AUGER (1917), GUILLAUME et BITTNER (1919) ont recommandé l'emploi du sérum polyvalent de Leclainche et Vallée soit en pansements locaux, soit en injection en couronne autour des ulcères.

Enfin BARRIER (1929) a traité avec succès, au Maroc, 10 animaux atteints de lymphangite ulcéreuse, avec une durée moyenne de traitement en 32 jours, par injections sous-cutanées répétées de sérum antigangréneux polyvalent. Mais l'examen bactériologique des cas traités n'a pas été fait et il se peut qu'il s'agisse d'une lymphangite non bacillaire.

MAILLAND (1930) a essayé sans succès ce sérum chez un cheval, ainsi que COLETTE.

URBAIN (observation inédite) a obtenu deux insuccès avec ce sérum.

Le sérum antigangréneux doit donc être éliminé de la thérapeutique de la lymphangite ulcéreuse.

2°. — Anticorps : Agglutinines, Précipitines et sensibilisatrices.

MINETT (1922) est le seul auteur qui se soit occupé de cette question, pour le sérum anti-Preisz Nocard. Nous avons vu qu'il a réussi à obtenir chez le cheval, comme chez le lapin, un sérum à la fois antimicrobien et antitoxique. Dans ce sérum, il a pu mettre en évidence, des agglutinines, des précipitines, des substances capables de fixer l'alexine et moins sûrement des opsonines. Il a même pu différencier deux races de bacilles de Preisz-Nocard dont les anticorps avaient des propriétés spéciales.

(a) Agglutinines.

Pour mettre des agglutinines en évidence, MINETT ajoute au sérum expérimental, une émulsion de bacilles ainsi préparée :

les bacilles de Preisz-Nocard, recueillis sur gélose-sérum après 3 ou 4 jours d'étuve, sont lavés puis tués par la chaleur (60°). Ils sont desséchés en présence de chlorure de calcium, broyés, puis émulsionnés dans l'eau physiologique.

La réaction d'agglutination est constatée après 4 heures au bain-marie à 55°.

Avec 11 souches de bacilles de Preisz-Nocard et le sérum du cheval hyperimmunisé, MINETT a obtenu les résultats suivants :

6 réactions positives, au taux de 1/20	
2 légèrement positives,	{ au taux de 1/40
6 positives	
2 positives	{ au taux de 1/80
4 légèrement positives	
1 positive au taux de 1/100.	

Le sérum normal n'a jamais agglutiné aucune des 11 souches étudiées.

b) Déviation du complètement

L'antigène de MINETT était constitué par une émulsion de microbes cultivés sur gélose et tués par la chaleur.

MINETT obtint de nombreuses réactions positives soit avec son sérum expérimental et diverses souches utilisées comme antigène, soit avec des sérums de lymphangiteux.

c) *Précipitines*

Elles sont mises en évidence en mélangeant une dilution à 1/8 de sérum de lapin hyperimmunisé avec un filtrat de cultures anciennes en bouillon.

*
* *

Nous avons cherché à mettre en évidence ces anticorps soit dans le sérum des chevaux infectés, soit dans le sérum des lapins hyperimmunisés (lorsqu'il se montrait antitoxique *in vivo*).

a) Nous n'avons jamais constaté de *précipitation immédiate* en mélangeant sérum et filtrat de cultures.

Nous avons vu par contre, qu'il était possible de mettre en évidence, une réaction de floculation en mélangeant sérum et toxine, après un certain temps.

b) Pour rechercher les *agglutinines*, nous avons utilisé une méthode analogue à celle de CHRISTIANSEN pour le bacille diphtérique, car comme ce dernier, les bacilles de Preisz-Nocard sont normalement agglutinés, lorsqu'on les émulsionne, en partant d'une culture sur gélose, ou lorsqu'on les dilue, en partant d'une culture sur bouillon.

Les cultures de bacilles de Preisz-Nocard sur gélose sont émulsionnées, après 18 à 24 heures d'étuve, dans l'eau physiologique; l'émulsion favorable est la plus dense qui soit encore transparente, elle contient environ 5 mmgr. de bacilles par centimètre cube (40 cc d'eau physiologique pour un tube de gélose). Pour préparer cette émulsion, on écrase soigneusement les bacilles contre la paroi du tube avec une baguette de verre ou on agite avec des perles de verre. Le tube contenant l'émulsion est laissé au repos. (5 à 12 heures), jusqu'à ce que les éléments les plus grossiers se soient précipités et on aspire à la pipette le liquide trouble qui surnage. C'est ce liquide qui sera mélangé au sérum dilué à des taux variables.

Nous n'avons jamais constaté d'agglutination en utilisant le sérum d'animaux atteints de lymphangite ulcéreuse, ou le sérum normal de cheval et de lapin.

Par contre, les sérums des lapins hyperimmunisés nous ont donné des agglutinations, après une ou deux heures d'étuve à 37°, à des taux variant de 1/20 à 1/40 mais jamais au-dessus.

c) Nous avons également cherché à mettre en évidence des *sensibilisatrices*, soit dans le sérum des chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse, soit dans le sérum des lapins hyperimmunisés. Pour cela, nous avons utilisé la méthode de déviation du complément de CALMETTE et MASSOL, en utilisant la technique employée au Laboratoire du Professeur BESREDKA et telle qu'elle est décrite par A. URBAIN dans ses divers travaux sur la réaction de fixation (doses croissantes d'alexine, titrage du sérum hémolytique).

Nous avons tout d'abord recherché quel était l'antigène qui convenait le mieux : bacilles tués par l'alcool-éther, émulsionnés à raison

de 1 cg. pour 20 cc. d'eau physiologique, bacilles vivants émulsionnées dans l'eau physiologique (1 cg environ dans 40 cc. d'eau) puis tués par la chaleur, toxine et anatoxine.

L'anatoxine (toxine formolée à 4 pour 1000) est à rejeter car elle a souvent un pouvoir anticomplémentaire marqué qui gêne la lecture de la réaction.

L'antigène qui nous a donné les meilleurs résultats est l'antigène alcool-éther, comme le préconise A. URBAIN pour tous les microbes. L'antigène constitué par des microbes tués par la chaleur, ou par de la toxine nous a toujours donné des réactions moins positives que l'antigène précédent, pour un même sérum contenant des sensibilisatrices.

Nous avons constaté, d'autre part, que le sérum normal de différents chevaux, le sérum antidiphthérique, le sérum antigourmeux ne donnaient jamais de réactions positives en présence de nos divers antigènes.

Voici les résultats de nos examens (tous les sérums examinés ont fourni un toxino-diagnostic positif).

SÉRUMS EXAMINÉS	ANTIGÈNE ALCOOL-ETHER. RÉACTION :	MICROBES TUÉS PAR LA CHALEUR. RÉACTION :	TOXINE. RÉACTION :
Mulet Remiremont..	très positive (25 unités)	positive (10 unités)	légèrement positive (5 unités)
Cheval Grenoble	positive (15 unités)	légèrement positive (5 unités)	négative
Ergoline.....	légèrement positive (5 unités)	»	»
Veinard.....	positive (10 unités)	»	»
Hélisse	négative	»	»
Troupier.....	positive (20 unités)	»	»
Altier	négative	»	»
Cadette.....	»	»	»
Amex	»	négative	négative
Uracca	positive (15 unités)	»	»
Rose III.....	positive (15 unités)	»	»
708 (Garches) ..	très positive (25 unités)	positive (10 unités)	légèrement positive (5 unités)
Berlue.....	légèrement positive (5 unités)	négative	négative
Cheval Carillon.	positive (10 unités)	»	négative
« Chandaraé	positive (10 unités)	légèrement positive (5 unités)	négative

Les sérums des 4 lapins hyperimmunisés (lapin blanc, 1, 9, et 94) ont fourni des réactions très positives (25 unités) avec l'antigène alcool-éther, et positives ou légèrement (10 et 5 unités) avec les microbes tués par la chaleur.

Conclusions

Si les sérums des lapins hyper-immunisés renferment des sensibilisatrices, les sérums des chevaux infectés par le bacille de Preisz-Nocard n'en renferment pas toujours, puisque sur 15 sérums examinés, deux ont fourni une réaction très positive, 7 une réaction positive, 2 une réaction légèrement positive et 4 une réaction négative.

Ces résultats permettent de conclure que la méthode de fixation du complément n'est pas une méthode certaine de diagnostic sérologique de la lymphangite ulcéreuse. D'autre part, ils sont tout-à-fait analogues à ceux obtenus dans l'infection diphtérique, résultats très inconstants (LAMBOTTE, BANDI, GATHOIRE, KOLMER, BAECHER et LAUB, FRANCHETTI, MASSOL et GRYSEZ, EBERSON, BOQUET et NÈGRE, URBAIN et FRIED, VALTIS, CHRISTIANSEN, STONE RUTH, DESCAMPS, BESSEMAN, DE POTTER et DECKERS).

CHAPITRE XII

Diagnostic expérimental

1°. — Séro-diagnostic

Il résulte des constatations précédentes que les réactions sérologiques (agglutination ou fixation de complément) ne permettent pas pratiquement le diagnostic des infections à bacille de Preisz-Nocard.

Seul le *toxino-diagnostic* préconisé par FORGEOT et CÉSARI (1912) permet un diagnostic sérologique de ces infections. Ces auteurs ont constaté que le sérum de 13 chevaux atteints d'infections chroniques à bacilles de Preisz-Nocard (dont neuf n'étaient porteurs que de lésions latentes : abcès rénaux) était suffisamment antitoxique pour conjurer la mort de cobayes recevant de la toxine sous forme de microbes alcool-éther et pour réduire à zéro ou à peu de chose la lésion locale.

Tous les sérums que nous avons utilisés soit pour nos réactions de floculation, soit pour nos réactions de fixation, nous ont fourni un *toxino-diagnostic* positif. Nous avons, également, souvent utilisé ce procédé dans des cas où l'examen de la flore microbienne de plaies de chevaux nous montrait des bacilles ayant les caractères morphologiques du bacille de Preisz-Nocard (*B. cutis communis* ou *Corynebacterium commune*) mais sans caractère pathogène. Dans tous ces cas, le *toxino-diagnostic* fut négatif.

Le sérum d'un cheval présentant des abcès suspects dans le pus desquels un bacille de Preisz-Nocard avirulent et atoxique fut isolé, nous fournit un *toxino-diagnostic* négatif.

Si, comme nous l'avons vu à propos de l'étude des sérums antitoxiques, nous avons utilisé parfois de la toxine liquide, dans la majorité des cas, nous avons utilisé la méthode de FORGEOT et CÉSARI, en injectant des microbes tués par l'alcool-éther. Ces microbes sont préparés suivant la technique rappelée en 1920, par NICOLLE, FRASEY, DEBAINS et NICOLAS, et qui est la suivante :

On peut utiliser soit une émulsion en eau physiologique de bacilles recueillis sur une boîte de gélose, soit des cultures en bouillon Martin de 2 ou 3 jours ; (dans ce dernier cas, ces cultures sont centrifugées puis lavées plusieurs fois à l'eau physiologique).

Après centrifugation d'émulsion ou de culture lavée, le culot est

délayé dans un excès d'alcool absolu (environ 50 cm³ d'alcool pour 5 gr. de microbes). On ajoute parties égales d'éther puis on laisse déposer 24 heures. On décante ensuite le liquide surnageant et le sédiment est mis à dessécher sous le vide sulfurique, dans un dessiccateur Chancel par exemple, (vide de 55 à 60 cm. de mercure).

Le sédiment desséché est pulvérisé et c'est la poudre ainsi obtenue qui est émulsionnée dans l'eau physiologique (1 cg dans 2 cc.) pour être injectée au cobaye.

Le sérum à examiner est injecté à la dose de 2 cc. dans les muscles gastro-cnémiens d'un cobaye de 400 à 500 gr. Le lendemain, ce cobaye reçoit sous la peau 2 cg de bacilles alcool-éther, ainsi qu'un cobaye témoin. En général ce dernier meurt en 18-24 heures avec escharre locale. Il en est de même pour le cobaye sérumisé, si le sérum ne provient pas d'un cheval infecté par le bacille spécifique, (on note parfois une survie de quelques heures). Dans le cas contraire, le cobaye sérumisé est protégé et ne présente qu'une légère réaction locale.

Nous n'avons jamais constaté d'affaiblissement de la toxicité des microbes tués par l'alcool-éther, même après plus d'un an de conservation au Laboratoire.

WATSON, en 1919, aurait constaté que cette toxicité diminuait. C'est pourquoi il recommande d'injecter au cobaye 1 cc de toxine soluble (dose mortelle) mis en contact avec une dose égale de sérum pendant 30 minutes ; si le sérum provient d'un animal infecté, le cobaye doit survivre alors que le cobaye témoin, qui reçoit la toxine seule, succombe en 24-36 heures. WATSON ne relate qu'une seule expérience.

Cette constatation est conforme aux expériences concernant l'antitoxine du bacille de Preisz-Nocard, mais l'emploi d'une toxine liquide n'est pas pratique. En effet, il faut la préparer chaque fois qu'elle doit être utilisée puisque nous savons qu'une toxine en bouillon s'affaiblit rapidement en vieillissant ; cette préparation demande une semaine et, nous rappellerons que le pouvoir toxique d'une souche donnée s'atténue avec le temps.

C'est pourquoi FORGEOT et CÉSARI ont préféré les microbes alcool-éther dont nos expériences ont confirmé l'avantage.

2°. — Réactions allergiques.

En 1918, à la suite d'une communication de BELIN sur la pyothérapie, VALLÉE dit : « Au même titre que tuberculeux et morveux, les sujets porteurs de lymphangites spécifiques chroniques sont en état d'allergie. Comme tels, ils obéissent aux lois de la réaction générale, locale et focale, aux antigènes.... Les réactions consécutives aux injections d'émulsion du bacille de Preisz-Nocard dans le traitement de la lymphangite ulcéreuse, établissent tout le parti que l'on peut tirer d'une telle pratique dans l'identification des formes suspectes de cette infection ».

VAN SACEGHEM (1918-19) met en évidence cet état de sensibilisation

chez un cheval convalescent de lymphangite ulcéreuse, en lui injectant dans la veine des bacilles vivants ; en quelques jours, il constata un réveil des anciennes lésions.

Au Centre Militaire de Recherches de l'Ecole d'Alfort, pendant la guerre, VALLÉE et BOSSAVY démontrent que les chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse réagissent à l'inoculation de cultures de bacilles spécifiques, comme les tuberculeux réagissent à la tuberculine ; ils injectent, sous la peau de la paupière, 1 cc d'extrait glycéринé de cultures en bouillon de bacille de Preisz-Nocard ; les chevaux infectés font une réaction locale,

BOQUET (1920) constate que la réaction n'est pas modifiée lorsqu'on injecte sous la peau un mélange extemporané de 1 cc. de toxine avec 1 à 4 cc de sérum de cheval convalescent de lymphangite ulcéreuse, ou lorsqu'on injecte simultanément, mais en des points différents, 1 cc de toxine et 15 cc de sérum.

CARRÉ (1923) a observé, lors de la pratique de la vaccination, parmi les troupeaux de moutons infectés, qu'un certain nombre de sujets présentait un œdème local au point de l'injection, suivi de boiterie. S'inspirant de la méthode préconisée par VALLÉE et BOSSAVY, il la fait appliquer dans de nombreux troupeaux et il constate que 1/4 de cc. de toxine du bacille de Preisz-Nocard, injecté dans le tissu conjonctif de la paupière supérieure, provoque chez les moutons injectés, vers la douzième heure, en général, parfois, un peu plus tard, un œdème plus ou moins volumineux, en tous cas facilement appréciable par comparaison avec la paupière non injectée. On peut rencontrer tous les degrés entre le léger œdème et la réaction violente et volumineuse, avec maximum entre la 15^e et la 24^e heure. En général, les animaux les plus atteints sont ceux qui présentent les réactions les plus atténuées.

En 1929, DESCAZEUX n'a d'abord obtenu aucun résultat par des injections révélatrices soit de toxine, soit de microbes morts, chez des moutons infectés de lymphadénie caséuse. Dans des essais postérieurs, il injecte dans le derme palpébral ou dans le pli de la queue, chez des moutons infectés expérimentalement, ou présentant des symptômes de l'affection, ou chez des moutons indemnes, des cultures de 24 heures, en bouillon Martin glucosé, filtrée sur bougie Chamberland F5, provenant de 2 races virulentes de bacilles.

Chez les animaux atteints, une réaction locale apparaît au bout de 12-24 heures. Des moutons vaccinés par des anacultures présentèrent, 6 mois après la vaccination, des réactions positives. La toxine concentrée par évaporation à basse température donne de moins bons résultats que la toxine fraîchement préparée.

CÉSARI (1930) injecte à un cobaye, ayant reçu 13 jours auparavant, une injection virulente de bacille de Preisz-Nocard, dans les muscles de la cuisse, 2 cc du liquide provenant de la filtration sur bougie Berkfeld d'un mélange de cultures de bacilles en bouillon Martin ayant séjourné de une à quatre semaines à l'étuve ; l'auteur propose d'appeler ce filtrat « *preisznocardine* » (toxine spécifique + produits d'autolyse

microbienne qui représentent vraisemblablement la substance active qui intervient dans le déclenchement des phénomènes d'hypersensibilité).

Quelques minutes après l'injection, le cobaye présente des soubresauts convulsifs et tous les signes du phénomène de Th. Smith. Un cobaye neuf recevant la même dose de Preisznocardine, ne présente aucune réaction.

CÉSARI injecte à plusieurs cobayes, préalablement infectés par le bacille de Preisz-Nocard, dans le derme cutané de la jambe, entre 1/10 à 1/20 cc. de preisznocardine. 24 à 36 heures après, ces cobayes présentent une réaction locale manifeste (tache escharrotique). Des cobayes témoins ne présentent aucune lésion.

URBAIN (1930) rapporte que des chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse, ont réagi fortement à l'injection intradermo-palpébrale de 1/10 cc de vaccin (constitué par des bacilles tués par la chaleur), présentant un œdème volumineux et chaud au point d'inoculation. Par contre, deux chevaux sains ne présentèrent aucune réaction à la même injection.

CASSAMAGNAGHI (1931) a entrepris de nouvelles expériences chez le cobaye et le mouton confirmant celles de CÉSARI, et celles de CARRÉ et DESCATZEAUX qu'il semble ignorer. Il utilise des cultures ayant séjourné plusieurs semaines à l'étuve, puis filtrées sur bougie L3.

A des cobayes infectés par inoculation virulente de bacilles de Preisz-Nocard, 15 ou 13 jours auparavant, il injecte dans le derme quelques gouttes de filtrat. A la 24^{me} heure, il constate un placard œdémateux de couleur jaunâtre qui devient jaune-verdâtre à la 48^e heure, et une petite escharre persistant jusqu'à la 72^e heure. L'infection des premiers cobayes fut constatée à l'autopsie.

CASSAMAGNAGHI obtient des résultats analogues chez des moutons expérimentalement infectés 36 jours auparavant et chez des moutons atteints de lymphadénie caséuse. Après inoculation intradermique de quelques gouttes de filtrat, dans le pli sous-caudal, il note un œdème local et de la rougeur persistant jusqu'au 4^{me} jour. 10 moutons sains, servant de témoins, ne manifestèrent aucune réaction.

MORCOS (1931), étudiant au Caire une affection de cheval et du mulet due à un bacille ayant les caractères du bacille de Preisz-Nocard, injecte dans le derme palpébral d'un mulet atteint, une culture glycinée de 4 jours préparée avec le bacille isolé ; ce mulet présente une réaction locale persistant pendant 18 jours alors qu'un cheval témoin présente une réaction locale qui disparaît en 6 jours.

CARPANO (1931) n'a pas obtenu de réactions allergiques bien nettes chez des chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse.

CARNE (1932) recherche également si le diagnostic de la lymphadénie caséuse peut-être aidé par la constatation de réactions allergiques. Il utilise à cet effet, de vieilles cultures en bouillon de bacilles de Preisz-Nocard, filtrées sur papier et stérilisées par la chaleur. Ce filtrat n'est pas toxique ; injecté à des cobayes à des doses élevées

(10 cc) il reste sans effet. Il est utilisé soit par instillation sur la conjonctive, soit par injection intradermique de 0,2 cc. dans la peau glabre de la face interne de la cuisse ou dans un repli caudal.

Après avoir constaté sur des animaux expérimentalement infectés que les intradermoréactions positives apparaissent uniquement sur les sujets porteurs de lésions d'adénite caséuse, CARNE applique cette réaction à un troupeau suspect de 50 brebis mérinos. Il obtient 25 réactions positives. Tous les animaux sont ensuite abattus. L'autopsie montre que parmi les 25 animaux ayant eu des réactions positives, 16 seulement (37,1 %) ont des lésions d'adénite caséuse et que sur les sujets n'ayant pas réagi, 12 seulement sont indemnes (48 %) ; les 13 autres sont fortement atteints.

Dans une autre expérience, CARNE utilise un filtrat de culture préparée suivant le procédé de CASSAMAGNAGHI : 50 moutons reçoivent dans un pli caudal 0,2 cc. de filtrat : 31 d'entre eux ont une réaction positive ; 15 seulement de ces animaux montrent à l'autopsie des lésions d'adénite caséuse ; les 16 autres sont trouvés sains.

En partant de plusieurs souches de bacille de Preisz-Nocard, nous avons préparé des filtrats de culture de 3 ou 4 semaines, soit suivant le technique de CASSAMAGNAGHI, soit suivant celle de CARNE et nous avons vérifié leur innocuité chez des cobayes en leur injectant sous la peau 5 et 10 cc.

Ces filtrats ont été injectés à la dose de 0,1 cc. dans le derme de la patte postérieure de cobayes sains ou précédemment infectés par le bacille de Preisz-Nocard. Nous n'avons jamais obtenu de réactions chez les cobayes sains. Voici les résultats de nos expériences :

1°) Filtrat sur bougie Chamberland L3

a) Cobaye infecté depuis 1 mois, présentant une orchio-vaginite spécifique ; pas de choc, légère rougeur de la patte injectée vers la 24^e heure, disparaissant le lendemain.

b) Cobaye ayant reçu 10 jours auparavant 1 cc. de bacilles tués par l'alcool-éther et présentant une grosse escharre locale :

Choc dans les minutes suivant l'injection, trismus, respiration accélérée ; légère rougeur de la patte inoculée le lendemain.

c) Cobaye infecté depuis trois mois et ayant guéri : pas de choc, pas de réaction locale.

d) Cobaye infecté depuis 1 mois : pas de choc, réaction locale assez nette : œdème violacé persistant 48 heures.

e) Le 13 septembre 1932, nous injectons du filtrat à divers cobayes infectés aux dates ci-après :

2 cobayes infectés du 23/6 — pas de réaction

1 — — du 27/7 — légère réaction locale à la 24^e heure.

1 — — du 6/8 — réaction locale nette et persistante à la 24^e heure.

1 — — du 16 février — pas de réaction.

2°) *Filtrat sur papier Laurent. Chauffé.*

a) 3 cobayes infectés depuis 1 mois (orchite) :
pas de choc, mais réaction locale très nette à la 24^e heure (œdème, rougeur) persistant 2 ou 3 jours.

b) Cobaye infecté depuis 3 mois :
légère réaction locale à la 48^e heure.

Ces diverses expériences montrent que les cobayes présentant des lésions réagissent, localement seulement, à l'inoculation intradermique de filtrat : le choc semble être un phénomène exceptionnel. Les cobayes dont les lésions ont cicatrisé ou guéri, ne réagissent pas ou peu à l'inoculation.

Nous avons également recherché les effets de l'inoculation intradermique de filtrat (chauffé ou filtré sur bougie L 3) chez le cheval.

Le filtrat chauffé est injecté à la dose de 1/10 cc. dans le derme de la paupière inférieure de l'œil droit, le filtrat sur bougie, injecté à la même dose, dans le derme palpébral de l'œil gauche.

8 chevaux sains reçoivent ces filtrats sans manifester la moindre réaction.

1 cheval atteint de lymphangite ulcéreuse (toxino-diagnostic positif) en bonne voie de guérison après 1 mois et demi de traitement, présente, 24 heures après l'inoculation intradermique, un léger œdème de la paupière, non douloureux et sans larmolement, œdème qui disparaît le lendemain.

1 cheval atteint de lymphangite ulcéreuse (bacilles de Preisz-Nocard trouvés dans le pus) depuis une semaine, présente après l'inoculation, un œdème chaud, peu douloureux de la paupière inférieure, œdème large comme la paume de la main, qui apparaît à la 20^{ème} heure et disparaît en 2 jours.

Le Vétérinaire Capitaine TRAIN, ayant eu l'occasion d'observer deux chevaux de son effectif, atteints de lymphangite ulcéreuse, a bien voulu pratiquer des inoculations intradermiques de filtrat sur bougie L3, de cultures vieilles de 3 semaines, obtenues en partant de la souche isolée d'un de ses malades, souche particulièrement virulente et toxique. Nous avons vérifié l'innocuité de ce filtrat pour le cobaye à la dose de 5 cc. par voie sous-cutanée.

Le filtrat inoculé dans le derme palpébral, à la dose de 1/10 cc. entraîne chez les deux chevaux malades une violente réaction locale (gros œdème de la paupière et larmolement mucco-purulent) persistant pendant 3 à 4 jours.

De nouvelles injections pratiquées 15 jours après les premières donnent des résultats analogues.

TRAIN inocule également dans les mêmes conditions, huit chevaux non suspects de lymphangite. Tous réagissent plus ou moins à l'inoculation ; la réaction paraît plus prononcée chez les chevaux à tissus lymphatiques.

Ces résultats ne permettent donc pas de conclure à la spécificité de la preisznocardine.

Nos expériences et les observations de TRAIN sont insuffisantes pour émettre une conclusion sur la valeur diagnostique des réactions allergiques chez le cheval atteint de lymphangite ulcéreuse. Cependant, la question mérite d'être étudiée et c'est ce que nous nous proposons lorsque nous en aurons l'occasion.

Conclusions

De cette étude générale du bacille de Preisz-Nocard, nous dégagerons les conclusions suivantes, en insistant sur quelques points particulièrement intéressants au point de vue pratique et en ce qui concerne la lymphangite ulcéreuse des équidés :

I. Le bacille de Preisz-Nocard est fréquemment rencontré dans les lésions purulentes du cheval. Sa présence n'est pas toujours mise en évidence, c'est qu'il est souvent associé (dans le cas de plaies ouvertes) à d'autres germes : streptocoques, staphylocoques, bacilles pyocyaniques et du groupe paratyphique-coli, qui peuvent masquer et même gêner son développement dans les milieux de culture. C'est pourquoi, il est nécessaire, après ensemencement de pus suspect d'observer, pendant 6-7 jours, les cultures obtenues avant de conclure à son absence.

II. Le bacille de Preisz-Nocard est douée d'une extrême vitalité ; il peut conserver sa virulence et sa toxicité pendant plus d'une année aussi bien dans les milieux de culture que dans le pus maintenu à l'obscurité ou au soleil. En outre, sa résistance aux antiseptiques habituellement utilisés pour la désinfection et sa facilité de vivre en saprophyte dans le milieu extérieur (sol des écuries, fumiers) sont autant d'éléments dont on doit tenir compte pour réaliser la prophylaxie de la lymphangite ulcéreuse.

III. Le bacille de Preisz-Nocard sécrète une hémolysine peu active, thermolabile, qui n'est mise en évidence que dans les cultures jeunes.

IV. Le bacille de Preisz-Nocard est pathogène spontanément pour le cheval, le mouton et la chèvre, le porc, les bovins et même l'homme. Il est pathogène expérimentalement pour le cobaye, le lapin, la souris, le chien et exceptionnellement pour le pigeon ; il ne l'est pas pour la poule. Pour toutes les espèces sensibles il affectionne particulièrement la voie cutanée. Expérimentalement, la voie péritonéale et intracardique pour le cobaye, la voie intracérébrale et intrarachidienne pour le lapin sont des voies d'introduction sévères.

La virulence du bacille de Preisz-Nocard est très variable suivant les souches isolées, d'où la nécessité de définir pour chaque souche le « pouvoir pathogène essentiel » du germe.

V. Le bacille de Preisz-Nocard, comme un certain nombre d'autres microbes, possède des éléments filtrables qui sont obtenus beaucoup plus facilement en partant de cultures jeunes que de cultures âgées ou de pus.

VI. Le bacille de Preisz-Nocard sécrète une toxine dont le pouvoir pathogène n'est pas très élevé. Cette toxine est bien différente de celle du bacille diphtérique. Toutefois, le sérum antidiphtérique peut protéger le cobaye contre une dose minima mortelle de toxine du B. de Preisz-Nocard ; par contre, le sérum anti-Preisz-Nocard n'a aucune action contre la toxine diphtérique.

Les meilleurs milieux convenant à la préparation d'une toxine active sont le bouillon : viande de veau-peptone (panse de porc), additionné de glucose et d'acétate de soude (RAMON) ou le bouillon Martin additionné de glucose et maltose (MARBE).

VII. — Le phénomène de *floculation* est facilement mis en évidence dans le mélange toxine + sérum anti-Preisz-Nocard ; cette flocculation est spécifique.

VIII. — La *prévention* des affections causées par le bacille de Preisz-Nocard ne peut être effectuée, actuellement, ni par l'emploi de vaccin, ni par l'emploi de sérum (antitoxique, mais non antimicrobien).

La *chimiothérapie* pourrait être envisagée en se basant sur l'action du bleu de méthylène et surtout de la gonacrine.

La *vaccinothérapie* (vaccins chauffés) constitue la meilleure méthode de traitement et doit être recommandée aussi bien chez le cheval que chez le mouton.

La possibilité de préparer en partant de vieilles cultures filtrées, un antivirus actif « in vitro » et « in vivo », dans certaines conditions, chez le lapin, permet d'envisager l'utilisation de l'*antivirusthérapie*.

La sérothérapie reste illusoire.

IX. — Les difficultés de recherche du bacille de Preisz-Nocard basée uniquement sur l'examen bactériologique des pus conduisent à utiliser d'autres modes de diagnostic :

Le *séro-diagnostic*, reposant sur la recherche des sensibilisatrices ou des agglutinines, ne peut donner de résultats pratiques.

Le *toxino-diagnostic* est une excellente méthode que nous n'avons jamais trouvée en défaut.

La possibilité de diagnostiquer l'affection due au bacille de Preisz-Nocard par les *réactions allergiques* mérite d'être retenue, cette question devant faire l'objet de nouvelles recherches.

*
* *

VU :
Le Doyen :
ROUSSY

VU :
Le Président :
DEBRÉ

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Le Recteur de l'Académie de Paris :
S. CHARLETY.

BIBLIOGRAPHIE

- P. ABADIE. — Contribution à l'étude de la maladie caséuse du mouton. (Thèse Doct. Vétér., Toulouse 1932).
- G. ABT et G. LOISEAU. — Réaction du milieu et production de la toxine diphtérique. (Ann. de l'Institut Pasteur, t. XXXVI, Juillet 1922, p. 535).
— Sur les facteurs des variations de pH dans les cultures de bacille diphtérique. (Ibid, t. XXXIX, février 1925, p. 114).
- I. ALTARA. — Osservazioni Su Alcune Lesioni dà bacillo di Preisz-Nocard nei Caprini della Sardegna. (Nuova Veter, 15 avril 1926, p. 1).
- S. ARLOING. — Leçons sur la tuberculose et certaines septicémies. (Paris, 1892, p. 227).
- M. AYNAUD. — La botryomycose du mouton. (C. R. Acad. Sciences, t. CLXXV, 1922, p. 1170).
— La botryomycose du mouton et de la chèvre. (C. R. Soc. Biol., t. LXXXIX, 1929, p. 215).
— La botryomycose des ovins, (suppuration caséuse, maladie des abcès). (Revue Génér. de Méd. Vétér., t. XXXVI, 1927, p. 500).
— La botryomycose du mouton (abcès du mouton, maladie caséuse). (Ann. Inst. Past., t. XLII, 1928, p. 256).
— Kystes à démodex, kystes sébacés et abcès du mouton. (Ann. Inst. Past., t. XLVI, 1931, p. 306).
- M. BARRIER. — Notes cliniques sur le traitement des lymphangites ulcéreuses par le sérum antigangréneux. (Discussion : Urbain, Truche, Césari, Cocu). (Bull. Acad. Vétér., t. II, 1929, p. 94).
- M. BELIN. — Traitement des lymphangites épizootique et ulcéreuse par l'autopyothérapie. (Bull. Soc. Centr. de Méd. Vétér., t. LXX, 1917, p. 346).
— Note complémentaire relative à la préparation du pyovaccin employé dans le traitement des lymphangites épizootique et ulcéreuse, (id., p. 462).
— Les réactions locales dans le traitement des lymphangites épizootique et ulcéreuse par la pyothérapie. Discussion : Vallée. (Bull. Soc. Cent. de Méd. Vétér., t. LXXI, 1918, p. 72).
— Des lymphangites contagieuses du cheval. — A : Nouvelle terminologie. — B : Contribution à l'étude du traitement par la pyothérapie. (id., p. 243).
— Traitement des lymphangites contagieuses du cheval par la pyothérapie. (Bull. Acad. de Méd., t. LXXXI, séance du 18 mars 1918, p. 315).
— Traitement des lymphangites contagieuses du cheval par la pyothérapie. Nouvelles expériences. (Bull. Soc. Cent. de Méd. Vétér., T. LXXII, 1919, p. 73).
— Traitement des lymphangites contagieuses du cheval et des plaies en général par la pyothérapie. (Rapport présenté par M. Piettre). (Bull. Soc. Centr. de Méd. Vétér., T. LXXIII, 1920, p. 219).

- BERGEON. — Notes de pathologie ovine tonkinoise. (Bull. Soc. Sc. Vétér. de Lyon, 1926, p. 131).
- A. BESSON. — Technique Microbiologique et Sérothérapique. T. II. (Baillière Edit, Paris, 1930).
- L. BIGOTEAU. — Sur la tremblante du mouton. (Rev. Génér. de Méd. Vétér., t. XXVIII, n° 332, 15 août 1919, p. 433).
- L. BIGOTEAU et BISSAUGE. — Hygiène et maladies du mouton. (1912).
- S. BILAL. — Contribution à l'étude du bacille pyogène de Poels. (Thèse Doct. Vétér., Paris, 1926).
- A. BOQUET. — Contribution à l'étude du R'Och (anémie et cachexie progressives des ovins algériens). L'hémolysine du bacille de Preisz-Nocard. (C. R. Soc. Biol. t. LXXII, 4 mai 1912, p. 176).
- El R'Och et bacille de Preisz-Nocard. (Bull. Soc. Centr. de Méd. Vétér., T. LXVI, 1912, p. 471).
- Cachexie ovine « El R'och » et bacille de Preisz-Nocard. (Rec. Hyg de la viande et du lait, 1913, p. 456).
- Origine intestinale des infections du mouton et de la chèvre dues au bacille de Preisz-Nocard. Pneumonie expérimentale. (C. R. Soc. Biol., t. LXXVI, 21 févr. 1914, p. 294).
- Contribution à l'étude de la lymphangite ulcéreuse des Solipèdes, (Rev. Vétér. et journ. de Méd. Vétér. et de Zoot., janvier, février, Mars 1920, pp. 10, 78, 137).
- BOUHET. — De l'emploi du vaccin Carré dans les infections dues au Preisz-Nocard chez le mouton. (Bull. Soc. Vétér. prat., Janvier 1926, p. 19). Discussion : Plessy.
- BOURBON. — Le troupeau ovin dans l'Indre et les principales maladies qui l'affectent. (Thèse Dr Vétér. Paris, 1925).
- J. BRIDRÉ. — Pseudo-tuberculose caséuse chez les agneaux. Discussion : Moussu. (Bull. Soc. Centr. de Méd. Vét., T. LIX, 1905, p. 358 et C. R., Soc. Biol., t. XIX, 8 Juill. 1905, p. 117).
- « Leucocythérapie » ou « pyothérapie aseptique » Son emploi dans certaines lymphangites du cheval. (C. R. Acad. des Sciences, t. CLXV, séance du 31 décembre 1917, p. 1121, et Bull. Soc. Centr. de Méd. Vétér., t. LXXI, 1918, p. 34).
- Sur le pouvoir antiseptique (antigénétique) de quelques couleurs d'aniline. (C. R. Soc. Biol., t. LXXXV, 1921, p. 645).
- D. BROCC-ROUSSEU et A. URBAIN. — La vaccination contre la toxine du bacille de Preisz-Nocard. (C. R. Soc. Biol., t. XCIII, 1925, p. 486).
- L. B. BULL. — Infection of a cow with the Preisz-Nocard bacillus. (Austral. Vétér. Journ., t. IX, Juin 1933, p. 94).
- L. B. BULL et C. C. DICKINSON. — 1. Studies on infection by and resistance to the Preisz-Nocard bacillus. 2. Susceptibility of the Guinea-pig and the distribution of lesions after cutaneous and sub-cutaneous inoculation and digestion. (Journ. exper. Biol. Méd. Sc., t. VIII, 1931, pp. 45 et 83).
- 3. Some preliminary observations experimental and natural infections of the sheep. (Austral. Vétér. Journ., t. IX, juin 1933, p. 82).
- J. B. BUXTON. — Experimental studies of the pathogenicity of the Preisz-Nocard bacillus for british sheep. (Institute for anim. path. Univers. of Cambridge. Report of the Director, 1 rapport 1929-1930, pp. 39 46).

- C. CADEAC. — Pathologie interne, t. VII, (Baillière édit.).
 — Pathologie chirurgicale de la peau et des vaisseaux. (Baillière édit.).
 — Sur la pyohémie caséuse des diverses espèces animales. (Journ. de méd. Vétér. et de Zoot., 30 septembre 1911, p. 520).
- H. R. CARNE. — The occurrence of green pus in suppurative lesions of the sheep (Journ. of the Council for scientific and Industr. Research. (Austr.) t. IV, nov. 1931, p. 232).
 — The diagnostic of caseous lymphadenitis by means of intradermal inoculation of allergie reagent. (Austr. Veter. Journ. t. VIII, avril 1932, p. 42).
 — Caseous lymphadenitis. Ingestion as a methode of infection of sheep with the Preisz-Nocard bacillus).
 — The growth of the Preisz Nocard bacillus ins heep faeces.
 — Caseous lymphadenitis : The disinfection of shearing machine handpieces. (Journ. Council for scientif. and Industr. Res. (Austr.), t. V, 1932, pp. 98, 103 et 212).
- H. R. CARNE et I. C. ROSS. — Caseous lymphadenitis : The association of the bacillus of Preisz-Nocard with lesions caused by *Oesophagostomum colombianum* in sheep. (Journ. Council Scieat. and Industr. Research, (Austr) t. IV, mai 1931, p. 78, et The Journ. of Compar. Pathol. and Therap. juin 1932, vol. XLV, part. 2, p. 150).
- H. CARNE et R. C. CRAMP. — The cause of the caseous lymphadenitis of sheep in Australia. (Austral. veter. journ., t. VIII, mars 1932 ; p. 28).
- CAROUGEAU. — Lymphangite ulcéreuse à Madagascar. (Rev. Génér. de Méd. Vétér., t. XXXIV, janv. 1925, p. 8).
- M. CARPANO. — Contributo alle conoscenze delle infezioni da difteroidi negli equini specialmente in Egitto. I. — Linfangite ulcerosa. II. — Dermite necrotica. (Clinica Vétér. Milano, t. LIX, 1931, p. 747).
 — Recherches sur une grave infection par *Corynebacterium* chez les chameaux (Bull. Soc. Int. Microb. Sez. Ital. vol. IV, Avr. 1932, p. 108).
- G. CARPENTIER et G. GUILLOT. — La lymphangite ulcéreuse dans l'armée. (Rev. Vétér. milit., t. XVI, 1932, p. 312).
- H. CARRÉ. — La suppuration caséuse (bacille de Preisz Nocard chez le mouton. Prophylaxie. — Essais de Vaccination). (Rev. Génér. de Méd. Vét., t. XV, janv. 1910, p. 65).
 — Etiologie de la congestion intestinale du cheval. (C. R. Acad. Sciences, t. CL, 7 févr. 1910, p. 358).
 — La maladie des abcès chez le mouton (microbe de la suppuration caséuse). Importance économique et prophylaxie. (Bull. Soc. Cent. de Méd. Vétér., t. LXIV, nov. 1910, p. 573).
 — La suppuration caséuse du mouton et de la chèvre. 3^e mémoire. (Rev. Génér. de Méd. Vétér., t. XVI, déc. 1910, p. 616).
 — Le bacille de Preisz-Nocard en pathologie ovine. Diagnostic expérimental. Prophylaxie. Vaccination. (Rev. Gén. de Méd. Vét., t. XXXII, janv. 1923, p. 1).
 — Le coccus pyogène du mouton. (C. R. Soc. Biol., t. LXXXVIII, 17 févr. 1923, p. 427).
 — Sur la suppuration caséuse du mouton. (Bull. Soc. Cent. de Méd. Vét., t. LXXXVI, Oct. 1923, p. 402).
 — La suppuration et les microbes pyogènes des petits ruminants. (Rev. Génér. de Méd. Vét., t. XXXVI, Mai 1927, p. 241).

- H. CARRE et L. BIGOTEAU. — Le bacille de Preisz-Nocard en pathologie ovine. Sa toxine et les affections qui lui sont dues. (Rev. Gén. de Méd. Vét., t. XI, 1^{er} et 15 avril 1908, p. 369 et 433).
- A. CASSAMAGNAGHI. — Morphologie et filtrabilité du bacille de Preisz-Nocard. Infections par voie cutanée. (Bol. mens. de Pol. Sanitaria de la Rep. or. del Uruguay, t. XIII, p. 358, in Bull. Acad. Vétér., t. III, 1930, p. 223). Discussion : Vallée, Césari.
- Observations sur la morphologie et le pouvoir de filtration du bacille de Preisz-Nocard ; son terrain préféré, la peau, à travers laquelle a lieu l'infection. (An. de la Escuela de Veterinaria des Uruguay), t. 2, janv. 1932, p. 3).
- Le diagnostic de la lympho-adénite caséuse des moutons par l'intradermo-réaction à la Preisz-Nocardine. (Bull. Acad. Vétér., t. IV, juillet 1931, p. 330)
- L. CAUCHEMEZ. — Au sujet de la maladie caséuse du mouton (Bull. Soc. Cent. de Méd. Vét., t. LXXVII, avril, 1924, p. 174).
- L. CAUCHEMEZ et A. URBAIN. — Au sujet du pouvoir toxique et de la virulence des bacilles de Preisz-Nocard provenant d'adénites caséuses de moutons congelés. (Bull. Soc. Cent. de Méd. Vét., t. L XXIX, mars 1926, p. 155).
- CENTRE MILITAIRE DE RECHERCHES DE L'ÉCOLE D'ALFORT. — Contribution à l'étude de la lymphangite ulcéreuse. (Rev. Génér. de Méd. Vét., t. XXVIII, mai 1919 p. 233).
- CÉSARI. — Sur le diagnostic de la lymphangite caséuse de l'intradermo-réaction à la preisznocardine. (Étude Expérimentale) Discussion : Brocq-Rousseu, Urbain, Césari. (Bull. Acad. Vétér., t. III, Juin 1930, p. 291).
- P. CHATELAIN. — Considérations générales sur le traitement de la lymphangite épizootique. (Rev. Génér. de Méd. Vét., t. XXVI, Juill. 1917, p. 289)
- TH. CHERRY et R. J. BULL. — Caseous lymphatic glands (Pseudo-tuberculosis) in sheep (The veterinarian, Melbourne, t. LXXII, août 1899, p. 523).
- COCU. — Observation sur un cas de suppuration rénale et paranéphrétique chez une jument. (Rapport de Benjamin). (Bull. Soc. Cent. de Méd. Vét., t. XVII, 1899, p. 232).
- COLETTE. — Contribution à l'étude du traitement de la lymphangite ulcéreuse. (Rev. Vétér. milit., t. XV, 31 déc. 1931, p. 481).
- CRAIG. — Middle Ear suppuration or otitis media in sheep. (The Veterinary Record, t. XI, 10 octobre 1931, p. 1039).
- R. C. CRAMP. — (New South Wales, Veterinary research Report n° 4, Mai 1929, p. 32).
- L. L. DAINES et H. AUSTIN. — A study of so called skin-lesion and no visible tuberculin-reacting Cattle. (Journ. of the Amer. Veter. Med. Vet. Assoc., vol. LXXX, mars 1932, p. 414).
- C. DARMAGNAC. — Lymphangite ulcéreuse simulant le farcin morveux. (Rev. Gén. de Méd. Vét., t. III, 15 mars 1904, p. 303).
- DARROU. — Sur l'emploi du novarsénobenzol dans le traitement des lymphangites contagieuses. (Bull. Soc. Cent. de Méd. Vét. vol., LXXIV, avril 1921, p. 206).

- DASSONVILLE. — Contribution à l'étude de la lymphangite ulcéreuse du cheval. Toxine du bacille de Preisz-Nocard. Discussion : Vallée, Basset, Even, Guérin, Dassonville. (Bull. Soc. Cent. de Méd. Vét., vol. LXI, décembre 1907, p. 576).
- R. DAUBNEY. — Abscesses in the Brain of sheep.
(The Veterinary Record, vol. XI, 26 septembre 1931, p. 997).
- A. DELNER. — Note relative aux traitements des lymphangites ulcéreuse et épizootique du cheval.
(Rec. de Méd. Vétér., t. XCV, 15 août 1919, p. 452).
- K. G. DERNBY. — La concentration optimale en ions hydrogène favorisant le développement de certains micro-organismes.
(Ann. Inst. Pasteur, t. XXXV, 1921, p. 277).
- J. DESCARFIAUX. — Contribution à l'étude de la maladie caséuse du mouton en Patagonie. (Rapport de Carré).
(Bull. Ac. Vétér., t. II, juill. 1929, p. 262)
— Toxi-diagnostic de la lymphadénie caséuse.
(C. R. Soc. Biol., t. CV, 1930, p. 236).
— A propos de la communication de Cassamagnaghi.
(Bull. Acad. Vét., t. IV, Octob. 1931, p. 368).
- DIECKERHOFF et GRAWITZ. — Die Acne contagiosa des Pferdes und ihre Aetiologie.
(Archiv. für Pathol. Anatomie, t. CII, 1885, p. 148).
- O. DUPONT. — Bacillo de Preisz-Nocard (da supuração caseosa da pseudo-tuberculosa).
(Rev. Vét. et Zootechnia, Anno VIII, 1918, vol. 9, N° 1, p. 29).
- Mc EACHRAN et G. K. THORPE. — Caseous lymphadenitis from the commercial meat inspection aspect.
(The Austr. Vet. Journ., vol. V, juin 1929, p. 46).
- F. EBERSON. — A bacteriologic study of the diptheroid organism with special reference to Hodgkins disease. (The Journ. of infections disease, vol. XXIII, 1918, p. I)
- A. ELOIRE. — Sur une mammite mortelle des brebis mères causées par le bacille de la suppuration caséuse de Preisz Nocard.
(Rec. de Méd. Vét., t. XCVIII, 15 juin 1922, p. 328)
- FAYET. — Quelques faits d'observation sur la lymphangite ulcéreuse.
(Bull. Soc. Cent. de Méd. t. LXX, déc. 1917, p. 508).
- FLORIOT. — Les méfaits de la boue.
(Bul. Soc. cent. de Méd. Vét., t. LXX, avril mai 1917, p. 133).
- G. FINZI. — Le pouvoir antitryptique, isolitique et hétérolytique du sérum sanguin de divers états pathologiques, (Tuberculose, et entérite chronique des bovidés, Suppuration caséuse du mouton, états cachectiques).
(Rec. de Méd. Vét. t. LXXXVIII, 15 août 1910, p. 515).
- FONTAINE et MESPOULET. — Sur une épizootie de dermite pustuleuse contagieuse. (Etude clinique et bactériologique). (Rev. Vét. milit., t. IV, 1913, p. 462)
- P. FORGEOT. — Bacille de Preisz-Nocard et bacille de Klebs-Löffler.
(Bull. Acad. Vét. t. III, Oct. 1930, p. 379).
- P. FORGEOT et CÉSARI. — Nouveau procédé de diagnostic des infections à bacilles de Preisz-Nocard. (Ann. Inst. Pasteur t. XXVI, févr. 1912, p. 102).

- J. M. FOUTELA. — Caseous lymphadenitis in sheep. (La Res. Buenos-Aires. 7, 1933).
- J. A. GILRUTH. — Pseudotuberculosis in sheep (lympho-adenitis). Report for 1901-1902-New-Zelande Department of Agriculture. (The Journal of comparative pathol. and Therap., vol. XV, déc. 1902 p. 324).
- K. GLASSER. — Untersuchungen über bazillare pseudo tuberkulose Erkrankungen mit besonderer Berücksichtigung der Pseudo-tuberculosis ovis. (Archiv. für Wiss. und Prakt. Tierheilkund ; Bd 35 ; 1909, pp. 471 et 582).
- H. GOLDIE. — Caractères hémolytiques des cultures de bacille diphtérique. (C. R. Soc. Biol., t. CXII, 1933, p. 1210).
- P. GORET. — Du rôle des humeurs dans l'immunité. Culture des microbes pathogènes sur les sérums normaux immunisants. (Thèse Doct. Vétér., Paris, 1931).
- Fr. GUERMONPREZ. — Que vaut une trouvaille du bacille de Preisz-Nocard chez l'homme ? (Rev. de Pathol. comp., t. XVI, décemb. 1916, p. 362)
- F. GUERMONPREZ et DUJARRIC DE LA RIVIÈRE. — Lymphangite phlegmoneuse et gangréneuse à bacille de Preisz-Nocard. (Arch. Méd. et pharmac. Milit., t. LXVI, sept. 1916, p. 346.)
- A. GUILLAUME et G. BITTNER. — Sérothérapie spécifique des plaies et infections pyogènes. (Rev. Génér. de Méd. Vétér., t. XXVIII, 15 Mars 1919, p. 113).
- L. GUINARD et A. MOREY. — Pseudo-tuberculose microbienne chez le mouton. (C. R. Soc. Biol., t. XLV, 1893, p. 893).
- T. T. Mc GRATH. — On the présence of the bacillus of Preisz Nocard in infected shear-cut wounds in sheep. Austr. veter. journ., t. V, déc. 1929, p. 148)
- HAAN et AUGER. — Contribution à l'étude des lymphangites du cheval. (Rev. Génér. de Méd. Vét., t. XXVI, 15 Octobre 1917, p. 469).
- S. C. HALL et R. V. STONE. — The diptheroid bacillus of Preisz-Nocard from equine, bovine, and ovine abscesses : ulcerative lymphangitis and caseous lymphadenitis. (Journ. of infectious Disease, t. XVIII, févr. 1916, p. 195).
- F. V. HARVEY. — Brain and meningeal abscesses in sheep. Middle Ear suppuration. (The veterinary Record, vol. XI, 26 septemb. 1931, p. 997).
- A. HINES. — Notes on treatment of ulcerative lymphangitis. (Veterinary Journ., vol. LXXIV, Juin 1918, p. 199).
- W. J. HOWARTH et T. D. YOUNG. — Caseous lymphadenitis in sheep. (Meat trades Journ., juill. 1926, p. 89 et The Veter. Record, 17 août 1926, p. 707).
- F. HUEPPE. — Naturwissenschaftliche Einführung in die Bakteriologie. (Wiesbaden, 1896).
- A. H. HUNTER. — Caseous lymphadenitis : results of six years' observations. (The veterinary Record, Vol. XIII, n° 39, 30 septemb. 1933, p. 952).
- INGUENEAU. — Traitement sérothérapique des lymphangites ulcéreuses et épi-zootiques. (Rev. Génér. de Méd. Vét. t. XXIX, 15 août 1920, p. 424).
- IRR. — Quatre cas de lymphangite ulcéreuse simulant la morve. (Rev. Vét. Algér. et Tunis., 25 nov. 1907).

- E. M. JARVIS. — Report on ixodic lymphangitis (Veter. Journ., vol. 74, févr. 1918, p. 44).
- JEANNOT. — Lymphangite ulcéreuse simulant l'affection farcineuse. (Rec. d'Hyg. et de Méd. Vét. milit., t. IV, 1903, p. 119).
- KITT. — Zur Kenntniss tuberculoseähnlicher Zustände der Lunge des Rindes. (Monatshfte für Thierheilk., T. I, 1890, p. 145).
- R. H. KNOWLES. — Treatment of ulcerative lymphangitis by vaccines made from the Preisz-Nocard bacillus prepared with ethyl-chloride. (The Journ. of compar. Pathol. and Therap., vol. XXI, part. 4, 31 décembre 1918, p. 262).
- G. DE KOCK et P. FOURIE. — Necrosis in musculature and myocard of sheep. Pseudo-tuberculosis. (13 th. and 14 th. Rep. of the Direct. of Veter. Education and Research, Part. I., 1928, p. 595).
- KUTSCHER. — Ein Beitrag zur Kenntniss der bacillären Pseudo-tuberculose der Nagethiere. (Zeitschrift für Hygiène, t. XVIII, 1896, p. 327).
- LAGNEAU. — Quelques aperçus sur les lymphangites. (Bull. Soc. Centr. de Méd. Vétér., t. LXXI, 1918, p. 311).
- LANGRAND et CHRÉTIEN. — Le microbe de Preisz-Nocard chez le porc. (Rev. de l'Hyg. de la viande et du lait, t. III, 1909, p. 152).
- K. B. LEHMANN et R. O. NEUMANN. — Atlas und Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik (Edit. 1912, t. II, p. 570).
- A. A. LEIBOLD. — Report on ulcerative lymphangitis in the A. E. F. (Amer. Journ. Vet. Med., vol. 14, août 1919, pp. 337 et 419).
- A. LEMETAYER. — Lymphangites ulcéreuses guéries par le pyovaccin iodo-éthéré (méthode Belin). (Rev. de Pathol. comparée, t. XX., 1920, p. 160).
- LENIENT. — Contribution à l'étude de la lymphadénie caséuse du mouton, son traitement par le vaccin Carré. (Thèse Doct. Vétér. Alfort 1929).
- LEPINAY. — Contribution au traitement des lymphangites du cheval, (Rev. de Pathol. comp., t. XVII, Janv. 1917, p. 9).
- Mlle LE SOUDIER et J. VERGE. — Le bacille de Preisz-Nocard chez la poule. (Ann. Inst. Past., t. XXXVIII., Avril 1924, p. 358).
- E. LIENAU. — Etude d'une pneumonie enzootique du mouton. (Ann. de Méd. Vét., déc. 1896, p. 625).
- Dermite pustuleuse du bœuf. (Ann. de méd. vét., mai 1902, p. 237).
- J. LIGNIERES. — Contribution al estudio de la adenitis caseosa de los Lanares y su prophylaxia. (Revista Zootechnica, n° 194., 15 novembre 1929, page 320).
- LUHRS. — Dermatitis pustulosa contagiosa beim Pferde. (Zeitschrift für Veterinärkunde, avril 1906, p. 268).
- R. MAILLAND. — Contribution à l'étude de la lymphangite ulcéreuse. (Observations recueillies au cours d'une épizootie). (Thèse Doct. Vétér., Paris, 1930).
- La réaction de Schick peut-elle être utilisée dans les effectifs de chevaux contaminés par le bacille de Preisz-Nocard ? (C.R. Soc. Biol., t. CV, 1930, p. 742).

- Contribution à l'étude de la lymphangite ulcéreuse du cheval. (Rev. Vétérinaire Milit., t. XV, 30 juin 1931, p. 202).
- H. MAGNUSSON. — A contribution to the knowledge of pyoemic forms of infection in sheep. (Journ. comp. Path., a. Therap., vol. XLII, Juin 1929, p. 73).
- R. MANNINGER. — Beitrag zur aetiologie der geschwürigen Lymphangioitis (Berl. tierärztl. Woch., t. XXXVI, 29 janv. 1920, p. 49).
- M. MARBE. — L'influence des hydrates de carbone (glucose et maltose) sur la production de la toxine diphtérique. (C.R. Soc. Biol., 1933, t. CXII, p. 1489).
- M. MARBE, O. DIMITRUI et V. STEFANESCO. — Rôle de l'acétate de sodium dans la production de la toxine diphtérique. Influence des hydrates de carbone (glucose et maltose) sur la production de la toxine diphtérique. (C.R. Soc. Biol., 1933, t. CXIII, pp. 487 et 489).
- H. C. MARCHISOTTI. — Sobre el agente de la supuracion caseosa (Revista Sud-Amér. de Endocrinologie, Immunologia et Quimiother., n° 5, 15 mai 1926).
- H. MARSH. — Caseous lymphadenitis (« cheesy gland », « gland disease ») of sheep. Its cause, distribution, means of spread and suggested methods of control in Australia. (Journ. Sci. a Industr. Res. Australia, 1930, vol. 3, p. 147).
- G. MAZZINI. — (Archivio Scientifico della Reale Soc. Naz. Vet. italiana, n° 1, 2 et 7, 8, 9, 10, 1910).
- R. MIDDELDORF. — Die chronische, abszedierende Phlegmine mit Sklerose und ihre Behandlung mit Eigenblut. (Berl. tierärztl. Wochench, b. XXXIV, 1918, p. 475).
- F. G. MINETT. — Immunological studies with the Preisz-Nocard bacillus and their application to ulcerative lymphangitis in the horse. (Journ. of comp. Pathol. a Therap. vol. XXXV, juin 1922, p. 71).
- Diptheroid bacilli from animals. (Journ. of comp. Pathol. a Therap., vol. XXXV, déc. 1922, p. 291).
- H. MOLLEREAU. — Un cas de lymphangite ulcéreuse. (Bull. Soc. Cent. de Méd. Vét., T. XV, 1897, p. 381).
- R. E. MONTGOMERY. — British East Africa. Annual Rep. of the Vét. Bacteriol. for the year : 1914-1915. (Kairobi ; British E. Africa ; Swift Press, 1916, p. 125).
- MOORE. — Suppurative lymphangitis. (The Veterinarian. Rep. of. Soc., 1897, p. 162).
- G. MOREL. — Contribution à l'étude de l'adénite caséuse du mouton. (Journ. de Méd. Vét. et Zoot., Sept. 1911. p. 513).
- Z. MORCOS. — An organism simulating the Preisz Nocard bacillus. — Foot and mouth necrosis in sheep. (The Veter. Record., Vol. XV, 3 janv. 1931. pp. 17 et 34).
- G. MULLIE. — Contribution à l'étude de la lymphangite ulcéreuse du cheval, sa symptomatologie, sa thérapeutique et sa prophylaxie. (Rec. de Méd. Vét., t. XCV, 15 fév. 1919, p. 34).
- E. A. NEWSON. — Ulcerative cellulitis or ulcerative lymphangitis. (The Vétér. journ., vol. 74, avr. 1918, p. 130).

- J. NICOLAS. — A propos du diagnostic de la morve. (Journ. de Méd. Vét. et de Zoot. t. LV, 1904, p. 470).
- M. NICOLLE, G. LOISEAU et P. FORGEOT — Les facteurs de toxicité des bactéries, (2^e mémoire, Etude des bacilles de Preisz-Nocard. (Ann. Inst. Past., t. XXVI, fév. 1912, p. 83).
- M. NICOLLE, FRASEY, DEBAINS et NICOLAS. — Recherches sur la préparation des sérums antimicrobiens et antitoxiques chez le cheval. (Ann. Inst. Past. t. XXXIV, 1920, p. 285).
- M. NICOLLE et A. BOQUET. — Eléments de microbiologie générale et d'immunologie. (2^e Edit. 1926, Paris, Doin Edit.).
- Ed. NOCARD. — Sur la valeur diagnoustique de la malléïne.
— Sur la malléïne. (Bull. Soc. Cent. de Méd. Vét., t. XI, 1893, p. 116 et t. XII, 1894, p. 92).
— Sur une lymphangite ulcéreuse simulant le farcin morveux, chez le cheval. (Ann. Inst. Past., t. X, Nov. 1896, p. 609, et Recueil de Méd. Vét., t. IV, 1897, pp. 5 et 99).
— Trois cas intéressants de lymphangite pseudo-farcineuse. (Bull. Soc. Cent. de Méd. Vét., t. XV, 1897, p. 430).
— Une nouvelle pasteurellose : White scour et lung disease des veaux en Irlande. (Bull. Soc. Cent. de Méd. Vét., t. XIX, 1901, pp. 231 et 396).
- E. NOCARD et E. LECLAINCHE. — Les maladies microbiennes des animaux (3^e Edition, 1903, t. II, Masson Edit. Paris).
- E. NOCARD et TRASBOT. — Dermite pustuleuse contagieuse. (Bull. Soc. Cent. de Méd. Vét. t. XVII, 1899, p. 163).
- J. A. NOERGAARD et J. R. MOHLER. — The nature, cause and economic importance of ovine caseous lymphadenitis. (16 th. animal report of the bureau of animal industry, 1899. p. 638 et Veterinary journal, vol. IV, 25 décembre 1901, p. 360).
- L. PANISSET. — Etude de l'infection du cobaye par le microbe de Preisz-Nocard. (Ann. Inst. Past., t. XXIV, 1910, p. 517).
— La vaginalite consécutive à l'inoculation intrapéritonéale chez le cobaye mâle. Valeur du signe de Strauss. Mécanisme de la localisation. (Rev. Génér. de Méd. Vét., t. XV, n° 178, 15 Mai 1910, p. 561.)
- L. PANISSET et LOISEAU. — Vaginalite expérimentale à bacille diphtérique. (C. R. Soc. Biol., t. LXV, 1908, p. 117).
- J. PELLETIER. — De l'emploi du vaccin de Carré en pathologie ovine. Traitement de la méningite chez les agneaux. (Thèse Doctorat Vétérinaire, Alfort, 1929.)
- J. F. PETRIE. — The toxigenic features of strains of the diphteria bacillus isolated from horses and from mule. (Journ. of Hyg., t. XX, Octob. 1921, p. 99).
- PLESSY. — Vaccination contre la septicémie des agneaux déterminée par la strongylose de la caillette. (Bull. Soc. Vét. prat., 1925, p. 271).
- H. POISSON et G. BUCK. — Sur trois cas intéressants de lymphangite ulcéreuse du cheval. Coup d'œil historique sur l'existence de cette maladie à Madagascar. (Rec. Méd. Vét. exot., Oct.-décemb. 1932, t. V, p. 185).
- H. PREISZ. — Recherches comparatives sur les pseudo-tuberculoses. (Ann. de l'Inst. Pasteur, t. VIII, 1894, p. 231).

- H. PREISZ et L. GUINARD. — Pseudo-tuberculose chez le mouton. (Journ. de Méd. Vét. et Zoot., vol. XLII, Nov. 1891, p. 563).
- J. M. QUEVEDO. — Paraplegia enzootica de los ovinos. (Revista Zootechnica, t. III, n° 33, 1912).
- G. RAMON. — La flocculation dans les mélanges de toxine et de sérum antidiph-
térique. (Ann. Inst. Past. t. XXXVII, 1923, p. 1001).
— Sur la toxine et l'anatoxine diphtériques. Pouvoir flocculant et
propriétés immunisantes. (id., t. XXXVIII, 1924, p. 1).
— Sur l'augmentation anormale de l'antitoxine chez les chevaux
producteurs de sérum antidiphthérique. (Bull. Soc. Cent. de Méd. Vét
t. CI, 1925, p. 227).
— Sur la production de la toxine diphtérique de valeur antigène intrin-
sèque élevée. (C. R. Soc. Biol., t. CXII, janv. 1933, p. 8).
- G. RAMON, R. DEBRÉ et P. THIROLOIX. — Sur le pouvoir pathogène du bacille
diphthérique ; moyens d'étude... Son déterminisme ; virulence et pouvoir
toxigène... Pouvoir pathogène essentiel des bacilles diphtériques isolés
au cours de l'épidémie parisienne récente. (C. R. Soc. Biol., t. CV,
1930, pp. 359, 362 et 526).
- E. M. ROBINSON. — Preliminary investigations in to an Icterus of sheep cau-
sed by a bacterium (Bacterial Icterus). (13 th. and 14. th Reports of
the Director of Veterinary Education and Research, part. II, Octob.
1928, p. 733).
— A note on Corynebacterium ovis (Bacillus of Preisz-Nocard). (15 th. Annual
Report of the Direct. of Veter. Serv., Union of South Africa, Octob.
1929, p. 119).
- A. ROTTGARDT. — Toxinwirkung des bazillus Preisz-Nocard und seine Eigens-
chaften. (Zentr. für Bakteriöl. (Originale), 1931, t. CXIX, p. 323).
— : Simbiosis entre el bacilo de Preisz-Nocard y el bacilo piogeno de Poëls en
los ovinos. (Bol. del Minist. de Agricult. de la Nacion, (Buenos Ayres),
t. XXX, Janvier-Mars 1931, p. 73).
- A. ROTTGARDT et A. RIGLOS. — Algunos caracteres culturales y biologicos del
bacilo de Preisz-Nocard. (id. t. XXIX, n° 2, Avril-Juin 1930).
- A. ROTTGARDT et R. SCASSO. — Toxino del bacilo de Preisz Nocard. Su accion
toxica y lesiones anatomo-pathologicas en el cobaye. (id. T. XXX,
N° 42, Avril Juin 1931).
- VAN SACZGHEM. — Etude sur des cas de dermite ulcéreuse des équidés observés
au Congo Belge. Discussion : Bridré. (Bull. Soc. Path. exot., t. IX, 1916,
p. 675).
— Traitement de la lymphangite ulcéreuse. (Bull. Soc. Path. exot., t. XI,
1918, p. 683).
— Recherches et expériences sur la lymphangite ulcéreuse des équidés. (Bull.
Soc. Path. exot. t. XII, 1919, p. 9).
— Recherches et expériences sur la lymphangite ulcéreuse des équidés. Trai-
tement de la lymphangite ulcéreuse. (Ann. de Méd. Vétér., Mars-Avril
1919, pp. 80 et 83).
— La Lymphangite ulcéreuse. (Echo Vétérinaire, Juillet 1919).
- H. W. SCHENING. — The presence of diphteria antitoxin in the blood of certain
normal horses and its démonstration by the Schick test. (Journ. Amer.
Veter. Med. Assoc., Juin 1922, t. XIV, p. 286).

- SCHWARZKOPF. — Tropical ulcers of the horse. (Amer. Veter. Rev., t. XXVI, 1902, p. 111).
- SÈRES et GUILLAUME. — Le bacille de la suppuration caséuse chez le porc. (Rev. Génér. de Méd. Vétér., t. XI, 1908, p. 127).
- F. SIVORI. — Sur une broncho-pneumonie caséuse du mouton causée par le bacille de Preisz-Nocard. (Rec. de Méd. Vét., t. VI, Novembre 1899, p. 657).
- « La Mancha » (la tache) des ovidés. (Toxinémie ovine à bacille de Preisz-Nocard). (Rev. Génér. de Méd. Vét., t. XIX, 1912, p. 236).
- H. R. SEDDON. — A discussion of the method of infection by bacillus de Preisz-Nocard. (Austr. Veter. jour., t. V, Juin 1929, p. 49 et New South Wales, Veter. Res. Rec., n° 4, Mai 1929).
- On the occurrence of lesions simulating caseous lymphadenitis. (Austr. Veter. jour., t. VII, déc. 1931, p. 141).
- H. R. SEDDON, H. C. BELSCHNER, A. L. ROSE et C. BLUMER. — Further observations on the method of infection in caseous lymphadenitis of sheeps. (Austr. Veter. jour., t. V, déc. 1929, p. 139).
- GRAHAM SMITH. — (Journ. of Agricult. Science, n° 2, p. 227).
- R. S. SPRAY. — Bactériologie study of pneumonia in sheep. A diplococcus associated with caseous lymphadenitis and pneumonia of sheep. (Journ. infect. Disease, t. XXXIII, juillet et août 1923, pp. 97 et 161).
- A. H. STRAUS et A. C. WIGHT. — Preliminary report on ulcerative lymphangitis in horse of the A. E. F. (Journ. Amer. Veter. Med. Assoc., Vol. V, Mai 1919, p. 180).
- TASKIN. — Sur le traitement des lymphangites bacillaires et cryptococciques. (Bull. Soc. Centr. de Méd. Vét., t. LXXII, janv. 1919, p. 36).
- Traitement des lymphangites contagieuses par la pyothérapie. (Bull. Soc. Centr. de Méd. Vét., t. LXXIII, 1920, p. 113).
- L. TEPPAZ. — Un cas de lymphangite ulcéreuse traité par le biiodure de mercure en injections intraveineuses. (Rec. de Méd. Vét., t. CIV, 1928, p. 406).
- M. THOMAS. — Contribution à l'étude des lymphangites ulcéreuses par la pyothérapie. (Bull. Soc. Centr. de Méd. Vét., t. LXXI, 1928, p. 292).
- A. D. THOMAS. — Actinobacillosis and other complications in sheep which may arise from the feeding of pickly pear (*Opuntia*, spp.). (Ith. report of the Direct. of Veter. serv. a. an. industry, Union of South Africa, Août 1931, P. 215).
- J. TRAUM. — Lymphangitis of cattle caused by the Preisz-Nocard bacillus. (The Cornell Veter., vol. 13, juill. 1923, p. 246).
- C. TRUCHE. — Traitement de la lymphangite ulcéreuse par la bactériothérapie. (Bull. Soc. Centr. de Méd. Vét., t. LXX, 1917, p. 177 et C. R. Acad. Sciences, t. CLXIV, Mars 1917, p. 497).
- TSUGE. — On the comparative study of Nocard's bacillus with Grawitz's bacillus. (Journ. of Japanese Soc. of veter. Sc., déc. 1912, Vol. 1 n° 4).
- TRUSKI. — Ein fall seuchenhaften Auftretens von Pseudotuberkulose bei Schafen. (Zeitsch. für Fleisch- und Milchhyg., t. VII, 1897, p. 178).
- A. URBAIN. — Action de diverses bactéries sur la toxine du bacille de Preisz-Nocard. (C. R. Soc. Biol., t. CI, 1929, p. 433).

- A. URBAIN, G. GUILLOT et M. VALLÉE. — Sur la vitalité du bacille de Preisz-Nocard. (C. R. Soc. Biol., t. CV, 1930, p. 676).
- A. URBAIN, M. VALLÉE et G. GUILLOT. — Les éléments filtrables du bacille de Preisz Nocard. (C.R. Soc. Biol., t. CV, 1930, p. 769).
- A. URBAIN et G. GUILLOT. — Sur le pouvoir flocculant de la toxine du bacille de Preisz-Nocard. (C.R. Soc. Biol., t. CX, 1932; p. 1226).
- H. VALLÉE. — Sur le traitement de la lymphangite ulcéreuse du cheval par le sérum antidiphthérique. (Bull. Soc. Centr. de Méd. Vét. t. LXI, 1907, p. 181).
- E.A. WATSON. — Report on ulcerative cellulitis-ulcerous lymphangitis. (The veterinary journal, vol. LXXIII, Nov. 1917, p. 382).
- Some remarks and suggestions on the vaccine and serum methods of treatment of ulcerative lymphangitis. (The Veterinary Journal, vol. LXXIV, mai 1918, p. 170).
- Note on a toxin-antitoxin method of diagnosis for ulcerative lymphangitis (bac. Preisz-Nocard). (Journ. of the Amer. Veterinary médical association, vol. LVI, décemb. 1919, p. 317).
- Ulcerative lymphangitis or « Preisz Nocard disease » of horses, with especial reference to immune sera toxin and antitoxin. (Journ. of the Amer. Veter. Med. Assoc, vol. LVII, juin 1920, p. 257).
- W. R. WATSON. — Preisz-Nocard bacillus infection in cattler. (The veterinary record, vol. XII, 27 décemb. 1932, p. 1486).
- H. A. WOODRUFF et D. T. OXER. — Caseous lymphadenitis. I. An experimental inquiry as the common modes of natural infection in sheep.
- H. A. WOODRUFF et T. S. GRÉGORY. — Observations on the age and sex incidence in a infected flock in relation to possible routes of infection (Austr. Veter. journ. t. V, décemb. 1929. p.p. 130 et 134).
-

